

SÉRIE A, N° 872
N° D'ORDRE : 1686

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Joseph MAGROU

1^{re} THÈSE. — SYMBIOSE ET TUBÉRISATION.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 29 Juin devant la Commission d'examen.

MM. MATRUCHOT *Président.*

GENTIL }
PÉREZ } *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1921

SÉRIE A, n° 872
N° D'ORDRE : 1686

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Joseph MAGROU

1^{re} THÈSE. — SYMBIOSE ET TUBÉRISATION.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 22 Juin devant la Commission d'examen.

MM. MATRUCHOT *Président.*

GENTIL } *Examineurs.*
PÉREZ }



PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

—
1921

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

Doyen honoraire. . . P. APPELL.

Professeurs honoraires. { P. PUISEUX.
VÉLAIN.
BOUSSINESQ.
BOUTY.

LIPPMANN Physique.
E. PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
Gaston BONNIER . . . Botanique.
KÖNIGS Mécanique physique et expérimentale.
GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
HALLER Chimie organique.
JOANNIS Chimie (Enseignement P. C. N.).
JANET Électrotechnique générale.
WALLERANT Minéralogie.
ANDOVER Astronomie.
PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
HAUG Géologie.
H. LE CHATELIER . . . Chimie générale.
Gabriel BERTRAND . . . Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale.
CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ Chimie appliquée.
G. URBAIN Chimie minérale.
Emile BOREL Calcul des probabilités et Physiq. mathém.
MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique.
G. PRUVOT Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
MATRUCHOT Botanique.
Professeurs ABRAHAM Physique.
CARTAN Mécanique rationnelle.
Cl. GUICHARD Géométrie supérieure.
LEBESGUE Application de l'analyse à la géométrie.
LAPICQUE Physiologie.
GENTIL Géographie physique.
VESSIOT Calcul différentiel et calcul intégral.
COTTON Physique théorique et Physique céleste.
DRACH Mathématiques générales.
C. FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
N. Histologie.

LEDUC Physique.
HÉROUARD Zoologie.
LÉON BERTRAND Géologie.
Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P. C. N.).
LESPIEAU Chimie.
SAGNAC Physique (Enseignement P. C. N.).
RABAUD Biologie générale.
PORTIER Physiologie.
BLAISE Chimie organique.
PÉCHARD Chimie (Enseignement P. C. N.).

Secrétaire. Daniel TOMBECK.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

GÉOGRAPHIE PHYSIQUE. — Caractères morphologiques de la région parisienne.

ZOOLOGIE. — Principaux cas de symbiose entre des Méta-zoaires et des Organismes inférieurs (Algues, Bactéries).

Vu et approuvé :

Paris, le 18 Avril 1921.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

M. MOLLIARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

P. APPELL.

SYMBIOSE ET TUBÉRISATION

Par M. Joseph MAGROU

INTRODUCTION ⁽¹⁾

1. **Cycle évolutif des plantes à tubercules.** — Un grand nombre de plantes, au lieu d'atteindre par une évolution graduelle leur forme adulte, ont un cycle évolutif comportant la succession de deux formes différentes ; on distingue alors, en général, une forme juvénile, prédominante ou exclusive au début, et une forme adulte, prédominante ou exclusive à la fin du développement.

Un exemple classique de ce mode de développement « hétéroblastique » est fourni par les plantes à tubercules. Deux phases alternent dans l'évolution de ces plantes : une phase de différenciation, caractérisée par le développement de tiges feuillées et de racines de structure normale ; une phase de tubérisation, caractérisée par « un retard dans la différenciation histologique et morphologique des points végétatifs ou des bourgeons, coïncidant avec la mise en réserve des aliments non utilisés pour la différenciation ».

Cette définition de la tubérisation, due à Noël BERNARD [1], est largement compréhensive : elle englobe non seulement le cas des plantes à tiges ou à racines renflées, mais encore le cas des plantes à bulbes ou à rhizomes, ou, plus généralement, des végétaux pourvus d'organes pérennants. Ainsi comprise, la tubérisation apparaît comme un phénomène d'une grande généralité, et l'on peut se demander si son existence chez les

(1) Les numéros entre [] renvoient à l'Index bibliographique.

espèces les plus diverses n'est pas le résultat d'une convergence, due à quelque condition de vie qui leur serait commune.

2. Facteurs physiques de la tubérisation. — En fait, la propriété de produire des tubercules est au nombre des caractères dont l'apparition peut dépendre de l'action de facteurs externes. Il est facile, dans des conditions de culture bien définies, de provoquer expérimentalement la tubérisation d'un grand nombre d'espèces en les soumettant à l'influence de facteurs physico-chimiques simples, notamment en élevant artificiellement la concentration de leur sève. De telles expériences renseignent sur le mécanisme physique de la tubérisation ; elles peuvent, dans une certaine mesure, expliquer la formation de tubercules chez des plantes cultivées, soumises à des soins culturaux qui ont pour effet d'augmenter la concentration du milieu nutritif. Mais les conditions où elles sont réalisées (cultures dans des solutions concentrées de glucose ou d'autres produits chimiques) sont trop particulières pour rendre compte de la tubérisation des plantes sauvages, qui vivent communément aux dépens de milieux nutritifs pauvres. S'il est vrai que, dans les conditions naturelles de vie, la production des tubercules soit sous la dépendance d'un facteur externe, ce facteur doit être d'ordre aussi universel que la tubérisation même.

3. La symbiose. — Dès le début de ses recherches sur la symbiose, Noël BERNARD a suggéré que la tubérisation était une conséquence et un symptôme de l'infestation des racines par des Champignons filamenteux endophytes. La vie en commun des plantes supérieures avec des Champignons est un phénomène très répandu ; or il est remarquable que ces cas de symbiose, dont on a reconnu l'existence chez la presque totalité des plantes vivaces sauvages, font défaut chez les plantes annuelles. Il n'était donc pas invraisemblable de penser, *a priori*, qu'une infestation parasitaire ait pu être cette circonstance naturelle amenant à l'état vivace les plantes arrivées aujourd'hui à se reproduire normalement par tubercules.

4. **Cas des Ophrydées.** — Noël BERNARD a réussi à démontrer cette hypothèse dans le cas des Orchidées. On sait que les plantes de cette famille hébergent régulièrement des Champignons dans les cellules de leurs racines. Or, ce sont toutes des plantes vivaces, à tubercules ou à rhizomes, et, chez la plupart d'entre elles, l'alternance des phases de différenciation et de tubérisation est particulièrement marquée. Par une étude attentive du cycle évolutif, portant surtout sur des représentants de la tribu des Ophrydées, Noël BERNARD [1] a d'abord reconnu l'existence d'une corrélation étroite entre la symbiose et la tubérisation.

Une Ophrydée adulte produit, tous les ans, au moins un tubercule qui s'isole au cours du printemps, entraînant le bourgeon qui l'a formé. Ce bourgeon se développe activement à la fin de l'été; il différencie une tige feuillée et souvent une hampe florifère; à l'aisselle des feuilles inférieures apparaissent des bourgeons qui ont d'abord un aspect normal et forment leurs premières feuilles. Cette période de différenciation est en même temps une période d'autonomie; le tubercule est, en effet, indemne d'infestation, et les racines absorbantes éphémères qui, chez les Ophrydées, sont seules envahies par le Champignon, n'ont pas encore fait leur apparition. Ces racines sortent de la base de la tige à la fin de septembre et, dès qu'elles ont atteint quelques centimètres de long, elles sont pénétrées par les endophytes venus du sol. Dès lors, le mode de développement change brusquement. Les bourgeons axillaires cessent de produire de nouvelles feuilles, et, dès le mois d'octobre, l'un d'eux au moins se renfle en un tubercule qui grossit rapidement. Quant aux autres, ils meurent souvent sans s'être différenciés davantage; mais, s'il arrive qu'ils se développent, c'est toujours en se tubérisant. Au cours de cette seconde période, qui s'étend d'octobre à juin, la plante ne différencie plus de parties nouvelles; elle se borne à déployer au printemps les feuilles et les fleurs qu'elle avait formées à l'automne, mais tous ses jeunes bourgeons se montrent incapables de produire des rameaux: ils meurent ou se tubérisent. Pendant toute la durée de la phase de tubérisation, les racines de la plante

sont largement envahies par les Champignons. Le mode particulier de croissance qui a pour résultat la formation des tubercules apparaît donc lié à l'infestation des racines. Chez les nombreuses Orchidées qui ont, à l'état adulte, un cycle évolutif comparable à celui des Ophrydées, on retrouve la même relation entre l'infestation et la tubérisation; les périodes de différenciation sont toujours des périodes d'autonomie, et, par contre, les tubercules ou articles de rhizomes ne se forment jamais qu'après l'invasion des racines par les Champignons.

5. **Tubérisation précoce des Orchidées.** — L'influence de la symbiose sur le développement a pu être démontrée par des expériences décisives, du jour où Noël BERNARD [4, 5] a réussi à isoler en cultures pures les endophytes des Orchidées. Ces Champignons, rapportés par Noël BERNARD au genre *Rhizoctonia*, se groupent en trois espèces, dont l'une (*R. repens*) est commune à un grand nombre de genres d'Orchidées, tandis que les deux autres (*R. lanuginosa* et *R. mucoroides*) sont spéciales à un petit nombre de genres hautement différenciés. Les graines rudimentaires des Orchidées, à embryon indifférencié et dépourvues de réserves, sont incapables de germination autonome. Prélevées aseptiquement dans le fruit mûr, et semées sur des milieux nutritifs convenables, dans des tubes stérilisés et maintenus à l'abri de l'invasion des microorganismes, elles restent indéfiniment inertes, ou tout au plus arrivent à gonfler légèrement et à verdier. Mais, dès que l'on introduit dans le tube de culture le *Rhizoctonia* convenable, les filaments de ce Champignon pénètrent les embryons, et la germination commence aussitôt. Or ces graines, qui ne sont capables de germer qu'après l'invasion de leurs cellules par le mycélium symbiotique, ont un mode de développement aberrant par rapport à celui des autres végétaux; au lieu de produire, comme les graines qui germent sans le concours de Champignons, des plantules grêles, enracinées dans le sol et pourvues d'une tige à feuilles espacées, elles se renflent, dès le début de leur développement, en un petit tubercule bientôt surmonté d'un bouquet de feuilles.

Chez de rares Orchidées, telles que le *Bletilla hyacinthina*, la germination peut se faire avec ou sans Champignons ; en l'absence de Rhizoctones, les graines de *Bletilla* donnent des plantules élancées et grêles, analogues aux formes juvéniles de la plupart des végétaux ; associées aux Champignons, elles germent au contraire, comme les autres Orchidées, en un tubercule embryonnaire.

6. **La théorie de Noël Bernard.** — Ces expériences montrent d'une façon décisive que la tubérisation précoce des plantules d'Orchidées est liée à la haute adaptation de ces plantes à la symbiose, qui, pour la plupart d'entre elles, est obligatoire dès le début de la vie. Des formes juvéniles tubérisées très comparables à celles des Orchidées existent d'ailleurs chez les Lycopodiacées, les Ophioglossées et les Psilotacées ; chez ces Cryptogames vasculaires inférieures, le prothalle, aussi bien que l'embryon, ne peut se développer qu'avec le concours de Champignons symbiotiques, et l'un et l'autre ont la forme et la structure des plantules tubérisées d'Orchidées. Il ne saurait s'agir en pareil cas d'une ressemblance phylogénétique ; seule la symbiose, qui réalise pour ces deux groupes de plantes une condition de vie commune, peut rendre compte d'une si parfaite analogie entre des êtres aussi distants.

S'appuyant sur ces phénomènes remarquables de convergence, et d'autre part sur les études statistiques qui révèlent l'existence à peu près constante de mycorhizes chez les plantes sauvages pourvues d'organes pérennants, Noël BERNARD a proposé d'envisager l'apparition de l'état vivace comme une conséquence de la haute adaptation des plantes à la vie commune avec des Champignons ; il a déduit de cette conception une théorie générale de l'évolution du règne végétal sous l'influence de la symbiose [5]. Cette manière nouvelle d'envisager le problème de l'origine des espèces ouvre à la recherche expérimentale de vastes domaines. En faisant entrevoir le déterminisme de l'apparition de l'état vivace chez le sporophyte des plantes supérieures, elle pose, entre autres, le problème de l'origine des plantes vasculaires.

7. **Objet du travail.** — Avant d'aborder l'étude expérimentale de questions aussi générales et, sans doute, aussi ardues, il est utile de rechercher au préalable si l'hypothèse de l'origine parasitaire des organes pérennants, démontrée dans le cas des Orchidées, peut être vérifiée directement dans d'autres groupes de végétaux.

C'est à de tels essais de vérification expérimentale que sera consacré le présent travail. J'espère montrer, par l'histoire de la Pomme de terre, de l'*Orobis tuberosus* et des Mercuriales, que, chez des plantes fort éloignées des Orchidées, la symbiose agit sur le développement dans le sens prévu par Noël BERNARD. S'il en est ainsi, un nouvel argument sera fourni à l'appui de la doctrine qu'il a formulée. Ainsi étayée par des faits nouveaux se rapportant à des cas variés, cette doctrine pourra paraître un guide plus sûr pour l'étude des problèmes les plus élevés de la biologie générale.

En terminant cet exposé historique, il importe de bien préciser la signification à attribuer au mot de symbiose. Ce terme est communément dévié de son sens étymologique et implique, pour beaucoup de naturalistes, la croyance à une association mutualistique à bénéfices réciproques pour les deux êtres associés. En fait, comme l'observe Noël BERNARD, dans la plupart des cas de symbiose, on sait seulement que l'association des microorganismes et des plantes est intime et habituelle. C'est dans ce sens purement objectif d'union intime et durable, et sans aucune arrière-pensée finaliste, que la symbiose sera envisagée dans ce qui va suivre. Ainsi compris, les phénomènes groupés sous ce vocable rentrent dans le cas général des associations entre microbes et êtres supérieurs dont les maladies infectieuses représentent une modalité fréquente.

Partant de là, j'examinerai, du point de vue de la pathologie comparée, les lois qui, dans la symbiose, règlent les rapports réciproques du parasite et de l'hôte.

Je me suis placé, dans tout le cours de ce travail, au point de vue évolutionniste qui a dominé les recherches de Noël BERNARD. L'étude histologique des mycorhizes des plantes

adultes, telle qu'elle a été souvent pratiquée, offre, en effet, peu de ressources pour comprendre les origines de la symbiose et son retentissement sur l'évolution des êtres qui s'y trouvent soumis. Pour chacun des cas étudiés ci-dessous, l'histoire du développement sera retracée, autant que possible, à partir de la germination de la graine, et des cultures comparatives en présence et en l'absence du Champignon symbiotique permettront d'apprécier l'influence de la symbiose sur le cycle évolutif.

CHAPITRE PREMIER

SYMBIOSE ET TUBÉRISATION CHEZ LA POMME DE TERRE

8. **Comparaison de la Pomme de terre et des Ophrydées.** — Si la relation entre la tubérisation et la symbiose, découverte par Noël BERNARD chez les Orchidées, offre quelque degré de généralité, la Pomme de terre est une des plantes chez lesquelles on devait être d'abord tenté d'en vérifier l'existence. Le cycle évolutif de la Pomme de terre, à l'état adulte, est, en effet, exactement superposable à celui des Ophrydées venues de tubercules. Un tubercule de Pomme de terre, planté dans le sol, commence par différencier ses bourgeons en tiges feuillées portant ou non des ébauches florales ; des bourgeons de second ordre situés à la partie inférieure des tiges évoluent en stolons grêles souterrains, qui souvent se redressent à leur extrémité et sortent du sol en donnant des rameaux feuillés aériens. Cette période de différenciation active a une durée variable suivant la variété considérée ; puis, brusquement, le mode de développement change : les bourgeons terminaux des jeunes stolons souterrains cessent de se différencier en tiges grêles ; ils se renflent en tubercules, où s'accumulent d'abondantes réserves amylacées. En même temps, les bourgeons aériens sont complètement arrêtés dans leur développement ; ils déploient encore les feuilles et les fleurs qu'ils avaient déjà formées, mais ne différencient plus de parties nouvelles, et tout l'appareil aérien de la plante ne tarde pas à se faner, le plus souvent sans avoir mûri ses fruits.

L'alternance des phases de différenciation et de tubérisation est donc ici aussi nettement marquée que chez les Ophry-

dées, et il était naturel de penser qu'elle était sous la dépendance du même déterminisme. Aussi, dès ses premiers travaux, Noël BERNARD [1] a-t-il tenté de pousser plus loin la comparaison entre les Orchidées à tubercules et la Pomme de terre, en recherchant s'il y avait chez cette dernière plante une infestation cryptogamique des racines coïncidant avec la tubérisation. Mais, tandis que des recherches de cet ordre, poursuivies parallèlement chez les Orchidées, aboutissaient très vite aux plus brillants résultats, elles se heurtaient dans le cas de la Pomme de terre à de sérieuses difficultés.

Dans les racines de la Pomme de terre cultivée, on trouve bien, çà et là, quelques Champignons filamenteux, mais leur présence est irrégulière et leur développement faible. D'autre part, ces Champignons n'ont ni la localisation précise, ni l'aspect très particulier qui caractérisent les endophytes des plantes à mycorhizes. Noël BERNARD [1] a étudié expérimentalement l'action d'un *Fusarium* isolé des racines ainsi infestées ; en le répandant dans le sol, au pied de Pommes de terre en voie de développement, il a bien provoqué une apparition plus précoce des tubercules, mais non les résultats décisifs qu'il escomptait. Après une longue étude, il était arrivé à se convaincre que les infestations constatées chez la Pomme de terre cultivée n'étaient que des « associations banales, sans permanence, sans fixité, sans effet notable », et qu'elles n'avaient rien de commun avec les mycorhizes proprement dites qu'il espérait découvrir dans ce cas.

Devant cette constatation, fallait-il abandonner une hypothèse qui se montrait féconde dans l'étude des Orchidées et qui permettait de coordonner d'une manière satisfaisante de nombreux faits relatifs aux plantes les plus variées ? Noël BERNARD ne l'a pas pensé, et, confiant dans la valeur des inductions qui l'avaient guidé, il reprenait l'étude du problème d'un point de vue nouveau.

9. Les mycorhizes des « Solanum ». — Chez la plupart des plantes à mycorhizes, les endophytes sont strictement localisés dans les racines absorbantes et n'envahissent ni les tubercules ni les rhizomes. Si, dans des conditions nor-

males de vie, la Pomme de terre hébergeait des Champignons symbiotiques, il n'est donc pas étonnant que, propagée depuis des siècles par la culture au moyen de tubercules dépourvus de Champignons, et transplantée sans cesse dans des terrains nouveaux, fort éloignés de son habitat naturel, elle se soit à la longue affranchie de son commensal. Ce n'était donc pas chez nos Pommes de terre cultivées et transplantées, mais bien chez leurs ancêtres sauvages, prélevés dans leurs stations naturelles sud-américaines, que l'on pouvait espérer découvrir le Champignon prévu par l'hypothèse.

N'ayant pu tout d'abord se procurer les matériaux nécessaires pour cette étude, et s'appuyant sur ce fait, constaté chez les Orchidées, qu'un même endophyte peut être commun à un grand nombre d'espèces de la même famille, Noël BERNARD eut l'idée de rechercher si la symbiose qu'il prévoyait ne se retrouverait pas chez les congénères vivaces de la Pomme de terre qui n'ont pas été soumis à la culture. Déjà M. JANSE [18] avait décrit chez le *Solanum verbascifolium* des forêts vierges de Java des mycorhizes parfaitement caractérisées. Noël BERNARD [7, 9] a entrepris à ce point de vue une étude de nos Douces-Amères indigènes, et, conformément à ses prévisions, il a retrouvé dans leurs racines une large infestation par un Champignon de même type, dont il a donné une description histologique détaillée.

10. Le « *Solanum Maglia* ». — Avec M^{me} Noël BERNARD [10], nous avons pu vérifier directement l'hypothèse de l'infestation de la Pomme de terre sauvage, en étudiant un pied de *Solanum Maglia*, récolté au Chili dans une station naturelle éloignée de toute culture. Parmi les nombreuses espèces de *Solanum* tubérifères sauvages originaires de l'Amérique, le *Solanum Maglia* est celle qui se rapproche le plus du *Solanum tuberosum* cultivé. Il n'en diffère guère que par son port, et par ses tubercules, qui, portés à l'extrémité de longs stolons, sont petits, à peau lisse, rougeâtres, à chair aqueuse. Mais ses fleurs à sépales prolongés par une pointe et à corolle rotacée, ses fruits sphériques, sont identiques aux fleurs et aux fruits du *Solanum tuberosum*. Aussi DARWIN considé-

rait-il cette plante comme le type sauvage de nos Pommes de terre comestibles. A l'époque de la découverte de l'Amérique, la Pomme de terre était cultivée depuis un temps immémorial dans les régions montagneuses du Chili et du Pérou; il est vraisemblable qu'elle dérivait de l'adaptation à la culture, réalisée à une époque lointaine, d'un type spontané identique ou analogue au *Solanum Maglia*.

Or, chez cette dernière espèce, nous avons constaté l'existence d'une infestation par un endophyte du type décrit par Noël BERNARD chez le *Solanum Dulcamara* et par M. JANSE chez le *Solanum verbascifolium*. Le Champignon envahit largement les fines radicules; il forme dans les assises moyennes de l'écorce des plages infestées étendues, où l'on retrouve, avec toute la netteté désirable, les pelotons, les arbuscules et les sporangioles caractéristiques des Champignons de mycorhizes. Cette observation démontre que, conformément aux prévisions de Noël BERNARD, la Pomme de terre dérive d'ancêtres normalement soumis à la symbiose avec des Champignons endophytes. La disparition du micro-organisme commensal chez le *Solanum tuberosum* cultivé n'est qu'un accident, dû à la mise en culture de la plante et à sa transplantation constante dans des terrains nouveaux.

Toutefois, si, dans ce cas encore, il y a relation de cause à effet entre la symbiose et la tubérisation, il peut paraître étonnant que les Pommes de terre aient continué à produire des tubercules après s'être affranchies de leurs hôtes. Il est probable qu'il intervient ici quelque-une de ces actions physico-chimiques que l'on sait capables de suppléer à la symbiose et de provoquer la tubérisation en l'absence de microorganismes. Chez les Orchidées même, Noël BERNARD a réussi à substituer à la symbiose, pourtant obligatoire dans les conditions naturelles de vie, l'action de milieux de cultures concentrés, et a obtenu par ce moyen la germination des graines et la tubérisation des embryons. Les soins agricoles, tels que la fumure du sol, auxquels les Pommes de terre sont soumises dans la culture, ont précisément pour effet d'augmenter la concentration du milieu nutritif où elles végètent, tandis que la sélection rigoureuse des semences ne laisse sub-

sister, à chaque génération, que les individus les plus sensibles à l'action des conditions artificielles de vie réalisées par les agriculteurs. Il est vraisemblable qu'en l'absence de sélection et de soins culturaux, les Pommes de terre cesseraient à la longue de tubériser. En fait, des exemples de semblables dégénérescences sont bien connus et montrent que la propriété de produire des tubercules ne s'est pas maintenue sans peine chez ces plantes. Au XVIII^e siècle, au moment où, grâce aux efforts de PARMENTIER, la culture de la Pomme de terre commençait à se propager largement en France, il était fréquent d'observer des champs entiers où tous les pieds produisaient en abondance des tiges feuillées, des fleurs et des fruits, mais ne formaient pas de tubercules.

DE L'ESCLUSE, qui, le premier, cultiva la Pomme de terre en Europe, à la fin du XVI^e siècle, signale que les plantes issues de graines évoluaient de même sans tubériser. « C'est, dit Noël BERNARD [7], grâce à des efforts méthodiques ou inconscients de sélection et de culture que les agriculteurs ont pu conserver à la plante sa propriété la plus utile, et il est fort probable qu'ici, comme en d'autres cas, les hommes ont substitué à des circonstances naturelles des conditions tout autres, bien que capables d'entraîner des effets équivalents.

11. Infestation expérimentale du « *Solanum tuberosum* ». — D'ailleurs, le Champignon capable de vivre en symbiose avec les *Solanum* étant découvert, il devenait possible de vérifier expérimentalement son influence sur le développement de la Pomme de terre. A cet effet, j'ai semé des graines de *Solanum tuberosum*, appartenant pour la plupart à la variété « Jaune de Norvège », dans un sol prélevé à la campagne, dans une lande inculte, au pied de Douces-Amères chez lesquelles l'existence de mycorhizes avait été préalablement constatée. Dans ce sol argileux pauvre, non additionné d'engrais, le développement s'est fait avec lenteur, et les plantes sont longtemps demeurées naines. Plusieurs d'entre elles ont été prélevées quelques semaines après le semis; elles avaient, au bout de ce temps, déployé leurs cotylédons; leurs premières feuilles étaient différenciées, et leurs racines commençaient

à se ramifier. L'examen histologique a montré, chez la plupart de ces plantules, un envahissement des racines par un Champignon identique à celui qui, normalement, infeste la Douce-Amère et le *Solanum Maglia*. Le mycélium traverse sans difficulté l'assise pilifère; il est arrêté plus longtemps par l'assise subéreuse, qu'il arrive à pénétrer par un processus très particulier qui sera décrit plus loin (chap. IV, § 27); après quoi, il se localise dans l'assise moyenne de l'écorce, où il commence à se pelotonner.

Dans les stades qui suivent la germination, les jeunes Pommes de terre se laissent donc pénétrer assez régulièrement par le Champignon et, jusque-là, les phénomènes du développement sont les mêmes pour toutes, mais, par la suite, le sort de l'association ainsi ébauchée varie suivant les individus; aux différences que l'on constate dans la modalité de l'infection correspondent des différences dans le mode de développement de la plante.

12. Influence de la symbiose sur le développement. — Des échantillons soumis à l'expérience ont été prélevés au bout de temps qui ont varié de quatre mois et demi à six mois et demi après le semis. A chaque prélèvement ainsi effectué, j'ai noté l'existence de deux types bien distincts de plantes. Chez les plantes du premier type, les bourgeons axillaires du nœud cotylédonaire et les autres bourgeons de la base de la tige s'étaient différenciés en rameaux grêles; tantôt toutes les ramifications ainsi formées se dressaient hors du sol sous forme de tiges feuillées aussi développées que la tige principale; la plante prenait en pareil cas l'aspect d'un buisson touffu, abondamment ramifié dès la base (pl. I, fig. 1 et 2). Tantôt, quelques-uns seulement des rameaux nés de la base de la tige avaient évolué en branches aériennes; les autres s'étaient développés en stolons souterrains; mais ces stolons, très allongés, terminés par un bouquet de petites feuilles et souvent redressés à leur extrémité, ne portaient en aucun cas trace de tubercules (Pl. II et III, fig. 1).

Chez les plantes du second type, au contraire, les bourgeons de la base de la tige, après une courte période d'élongation,

avaient cessé de se différencier et s'étaient renflés en tubercules en arrière du bourgeon terminal. Les échantillons de cette catégorie, très différents des premiers, étaient donc formés par un axe feuillé aérien unique, portant à sa base une touffe de courts stolons souterrains, renflés en tubercules à leur extrémité (Pl. I, fig. 3 et 4; Pl. II et III, fig. 2).

L'examen de coupes en série pratiquées dans les racines chez des échantillons de l'un et de l'autre type a montré qu'à chacun des deux modes de végétation correspondait une réaction différente de la plante vis-à-vis du microorganisme envahisseur. Chez les plantes tubérisées, les racines sont largement envahies par le Champignon, qui forme, dans l'assise moyenne de l'écorce, des plages infestées vastes et nombreuses. Les troncs mycéliens principaux sont de calibre irrégulier; ils ne sont pas cloisonnés, ou du moins ne présentent que des cloisons rares et disposées sans ordre; ils renferment un protoplasma réticulé et de nombreux noyaux (Pl. VI, fig. 2). Ils forment dans les cellules des pelotons moins serrés que ceux des Orchidées, d'où naissent des rameaux secondaires, qui se ramifient dichotomiquement en ramuscules de plus en plus ténus. Ces fins rameaux dichotomes s'enchevêtrent d'une manière complexe, formant des buissons touffus qui remplissent la cavité des cellules (Pl. VI, fig. 3). De telles formations, connues sous le nom d'arbuscules, sont caractéristiques des Champignons de mycorhizes.

A un stade ultérieur, les arbuscules s'altèrent et se transforment en corps de dégénérescence multilobés, réfringents et surcolorables, décrits par M. JANSE chez d'autres plantes à mycorhizes, sous le nom de sporangioles (pl. VI, fig. 4 et 5). Mais, dans les plages même où les arbuscules sont totalement détruits et transformés en corps de dégénérescence volumineux, les troncs mycéliens principaux restent bien vivants et continuent à propager l'infestation dans les cellules voisines. Chez les plantes tubérisées, une symbiose durable s'est donc établie entre l'endophyte et l'hôte qui l'héberge.

Il n'en est pas de même chez les Pommes de terre qui évoluent sans produire de tubercules: ici, le Champignon

pénètre bien çà et là quelques cellules des racines, mais il est rapidement digéré par ces cellules et ne produit ainsi qu'une infestation très restreinte. Les plages infestées, rares et peu étendues, passeraient inaperçues sans un examen minutieux de coupes en séries, pratiquées dans la totalité des racines de la plante. Les Champignons qui les forment sont complètement détruits (Pl. VI, fig. 6) : les troncs mycéliens sont surcolorables, rétractés, vidés de leur contenu protoplasmique ; les sporangioles manquent ou sont de petite taille, ce qui indique que les arbuscules ne se sont pas différenciés, ou du moins n'ont pas eu le temps d'atteindre leur complet développement. Les plantes de cette catégorie, par une réaction d'immunité précoce et brutale (1), se sont affranchies de leurs hôtes dès leurs premières tentatives de pénétration ; elles ont ensuite parcouru tout le cours de leur évolution à l'état de vie autonome.

En résumé, parmi les plantes exposées à la pénétration de l'endophyte, celles qui se sont adaptées à la symbiose ont tubérisé les bourgeons terminaux de leurs rameaux secondaires ; celles qui se sont affranchies du Champignon et ont mené une existence autonome ont différencié en rameaux feuillés les bourgeons de la base de la tige et n'ont pas produit de tubercules (2). Or, chaque série d'expériences a porté sur des plantes appartenant à la même variété et cultivées dans des conditions identiques de terrain, d'aération et d'éclairage ; des échantillons de l'un et de l'autre type se rencontreraient communément dans le même pot ; la symbiose est donc le seul facteur qui ait varié chez les plantes en expérience, le seul par conséquent dont on puisse invoquer l'action pour expliquer les différences constatées dans le mode de végétation.

13. Culture aseptique de la Pomme de terre. — J'ai néanmoins, à titre de contrôle, tenté d'obtenir le développement

(1) Les mécanismes d'immunité par lesquels les plantes détruisent leurs hôtes ou limitent leur progression sont étudiés dans le chapitre IV.

(2) Les statistiques sur lesquelles se fondent ces conclusions sont résumées dans l'appendice, sous forme de tableaux.

de la Pomme de terre dans des conditions d'asepsie rigoureuse. A cet effet, des graines ont été semées, après stérilisation par l'eau oxygénée, sur un milieu nutritif gélosé (1) renfermé dans des tubes bouchés au coton et stérilisés. Malheureusement, ces conditions de culture se sont montrées très défavorables à l'élevage des plantules de Pomme de terre, qui, après plusieurs mois de végétation, étaient encore réduites à une tige feuillée grêle, filiforme, à feuilles espacées et complètement atrophiées. A la vérité, ces plantes aseptiques n'ont pas produit de tubercules, mais leur développement était trop anormal pour fournir un terme de comparaison utile avec les plantes infestées. Par contre, dans un essai du même genre, M. MOLLIARD [1] a réussi à obtenir des plantules de Pomme de terre bien développées sur des milieux minéraux additionnés ou non de glucose. Après cinq mois, les plantes cultivées dans ces conditions avaient développé une tige principale pourvue de feuilles de dimensions normales, et en aucun cas les rameaux secondaires de la partie inférieure de la plante n'avaient produit de tubercules. Ce n'est qu'en favorisant, au moyen d'un artifice particulier, l'absorption des sucres par les racines que M. MOLLIARD a pu obtenir des plantes aseptiques à tiges aériennes épaisses, chargées d'amidon, qu'il considère comme homologues de tubercules.

Les conclusions que M. MOLLIARD tire de ces constatations seront rapportées avec plus de détails dans un chapitre ultérieur (chap. V, § 38). Je ne retiens pour le moment de son expérience que ce fait, concordant avec les résultats exposés ci-dessus, que la Pomme de terre issue de graine, cultivée à l'abri de tout microorganisme, et en l'absence de tout artifice ayant pour effet d'augmenter la concentration de la sève, évolue sans produire de tubercules.

Les expériences qui font l'objet du présent chapitre n'impliquent pas que la symbiose soit le seul facteur capable d'entraîner la tubérisation de la Pomme de terre. Il est vraisem-

(1) Le milieu employé est le même qui a servi pour les cultures aseptiques d'*Orobis tuberosus*. Sa composition est donnée ci-dessous (§ 15).

blable que les agriculteurs qui propagent la plante par voie de semis réalisent empiriquement des conditions artificielles équivalentes et capables d'entraîner les mêmes effets. Les faits que j'ai rapportés indiquent tout au moins que, dans des sols pauvres, comparables aux milieux de culture que les plantes rencontrent communément dans la nature, la symbiose peut exercer une influence décisive sur la production des tubercules. Ils confirment par là, dans le cas particulier de la Pomme de terre, les vues générales de Noël BERNARD sur le déterminisme de la tubérisation.

CHAPITRE II

HISTOIRE DE L' « OROBUS TUBEROSUS »

14. **Mode de végétation de la plante adulte.** — L'*Orobis tuberosus* L. (1) est une Légumineuse printanière que l'on trouve localisée dans des stations bien limitées, généralement dans les sous-bois sablonneux. A l'état adulte, la plante est pourvue d'un abondant système de longues tiges souterraines portant de place en place des renflements tubéreux. L'un de ces tubercules, vraisemblablement le plus anciennement formé, est plus volumineux que les autres ; de forme irrégulière, bosselé, il paraît résulter de la coalescence de plusieurs tubérosités élémentaires ; la surface en est rugueuse et la couleur noire (fig. 1, T). Tout le système souterrain de la plante rayonne autour de cette souche tubérisée primaire, qui donne naissance à un abondant chevelu de racines et à des tiges souterraines de deux sortes : les unes, les plus anciennes, sont colorées en noir ; les autres, d'apparition plus récente, sont dépourvues de pigments. La plupart de ces rameaux portent, à plus ou moins de distance du gros tubercule d'où ils sont issus, des renflements en forme de toupie d'où naissent, au nombre de deux ou trois en moyenne, des rejets souterrains eux-mêmes tubérisés aux nœuds (fig. 1, t_2 , t_3 , t_4). Les stolons se terminent dans le sol par un bourgeon non renflé, ou, après un trajet souterrain souvent fort long, se redressent en tiges feuillées aériennes (fig. 1, f).

L'étude anatomique des tubercules montre qu'ils ont une structure de tige typique ; on y trouve des faisceaux libéro-ligneux, au nombre de quatre en moyenne, disposés en croix

(1) Syn. : *Lathyrus montanus* Bernh. = *Lathyrus macrorhizus* Wimmer.

et se rejoignant au centre du tubercule. Chacun des faisceaux ligneux apparaît, en coupe transversale, extrêmement étroit



Fig. 1. — *Orobus tuberosus* adulte, en octobre. — T, tubercule primaire ; s, tiges souterraines ; t_2 , t_3 , t_4 , tubercules de deuxième, troisième et quatrième ordres ; f, tige feuillée aérienne. Réduit aux 2/3 de la grandeur naturelle.

par rapport à sa longueur ; il est formé de deux à quatre files de vaisseaux disposés en rangées radiales, entremêlés de quelques faisceaux fibreux. Il existe une assise génératrice

libéro-ligneuse qui fonctionne au niveau des faisceaux et dans leur intervalle. Les rayons médullaires ont la forme de quadrants circonscrits par les faisceaux ; ils sont formés de grandes cellules parenchymateuses isodiamétriques, disposées en files radiales, et remplies de grains d'amidon. L'écorce, mince relativement aux dimensions du cylindre central, est formée de même d'un parenchyme amylicé, à l'exception de ses assises les plus externes, qui sont subérifiées.

L'examen des coupes pratiquées à travers le gros tubercule bosselé que l'on trouve à la base de la plante montre qu'il renferme plusieurs systèmes vasculaires libéro-ligneux, affectant chacun la disposition qui vient d'être décrite, et réunis par des faisceaux anastomotiques. Ce tubercule a donc bien la structure complexe que révélait son aspect extérieur : il est formé par la coalescence de plusieurs tubercules élémentaires.

Les racines des plantes récoltées dans les stations naturelles hébergent constamment un endophyte, décrit pour la première fois par M. GALLAUD [17] (1). Cet endophyte présente tous les caractères des Champignons de mycorhizes ; il a des troncs mycéliens volumineux, intercellulaires, qui rampent dans les méats suivant l'axe de la racine et donnent naissance à des rameaux latéraux qui pénètrent dans les cellules corticales et s'y résolvent en arbuscules à ramifications dichotomiques d'une admirable netteté (Pl. VII, fig. 1). L'état de l'endophyte varie d'ailleurs, comme on le verra plus loin, avec la saison, et avec l'âge de la racine qui le renferme.

L'*Orob. tuberosus*, en dépit de son infestation constante, a des graines capables de germination autonome, qui se déve-

(1) Les individus soumis à la culture peuvent éventuellement s'affranchir de la symbiose. J'ai cherché les Champignons en vain dans un pied d'*Orob. tuberosus* provenant du jardin botanique de la Faculté de Pharmacie, que je dois à l'obligeance de M. Guignard. Dans la lettre jointe à l'envoi de cet échantillon, M. Guignard me signale que la culture de la plante est d'ailleurs assez aléatoire ; cela tient vraisemblablement à l'absence de l'endophyte dans les sols où elle est bouturée. Ce retour à la vie autonome consécutif à la mise en culture est à rapprocher des faits observés chez la Pomme de terre.

loppent bien en milieu stérilisé. L'étude des cultures aseptiques permettra de préciser les homologues et le mode de formation des tubercules et fournira le moyen d'apprécier l'influence de l'endophyte sur le développement de la plante.

15. Développement en milieu aseptique. — Des graines d'*Orobis tuberosus*, stérilisées par une immersion de six heures dans l'eau oxygénée, sont transportées aseptiquement sur des plaques de coton imbibées d'eau de source, préalablement stérilisées et renfermées dans des fioles de culture triangulaires. Les premières germinations apparaissent peu de jours après le semis, mais d'autres ne se produisent qu'au bout de plusieurs mois. Toute graine qui germe est aussitôt transportée, au moyen d'une anse de platine flambée, dans un large tube de culture renfermant le milieu nutritif suivant, stérilisé à l'autoclave :

Sulfate de magnésium	0gr,5
Sulfate de sodium.....	0gr,5
Nitrate de potassium	0gr,5
Phosphate hipotassique.....	0gr,5
Chlorure de calcium	0gr,5
Tartrate de potassium	0gr,5
Tartrate ferrico-potassique.....	0gr,01
Gélose à 8,7 p. 1 000 dans l'eau distillée	1 000 cent.cubes (1).

Les nombreuses graines qui ont été semées dans de telles conditions ont donné des plantules qui, cultivées aseptiquement sur le milieu ci-dessus, ont évolué suivant un type uniforme. Les cotylédons, au moins au début et parfois pendant toute la durée du développement, restent inclus dans le tégument de la graine, et l'axe hypocotylé demeure court ; la germination se manifeste d'abord par l'apparition d'une radicule bientôt ramifiée et d'une tigelle qui se différencie en une haute tige feuillée, atteignant rapidement une hauteur de 10 centimètres en moyenne, à entre-nœuds allongés, à feuilles bien développées et pourvues de deux folioles ; cette tige primaire se bifurque souvent au niveau de

(1) L'abaissement du point de congélation de cette solution minérale est égal à 0°,09. La technique de la préparation de la gélose nutritive est donnée en appendice.

son premier nœud et se ramifie en outre à des hauteurs diverses. Dès qu'elle a atteint ce degré de développement (quatre-vingts jours en moyenne après la germination), on voit apparaître à la base de la plante deux bourgeons, situés chacun à l'aisselle de l'une des feuilles cotylédonaire (fig. 2); ces bourgeons se différencient rapidement en hautes tiges feuillées, qui ne tardent pas à atteindre l'état de développement de la tige principale. Des bourgeons adventifs



Fig. 2. — Base de la tige de deux plantules aseptiques d'*Orobus tuberosus*, en gélose, cent dix-huit jours après la germination: — *t*, légument de la graine; *c*, *c'*, cotylédons; *b*, *b'*, bourgeons axillaires du nœud cotylédonaire, en voie de développement. Gr. = 4.

continuent ensuite d'apparaître successivement et en nombre indéfini à l'aisselle des cotylédons et se développent à leur tour en tiges feuillées (fig. 3). L'apparition et l'élongation des bourgeons axillaires du nœud cotylédonaire se produisent ainsi sans interruption jusqu'à la mort de la plante, qui finit par se dessécher après neuf ou dix mois de végétation (1).

Ce mode de développement, caractérisé par la différenciation rapide des bourgeons adventifs de la base de la tige, donne à la plante un port particulier: tous les pieds d'*Orobus*

(1) On peut retarder de quelques mois la dessiccation totale en arrosant de temps en temps les cultures avec de l'eau stérilisée.

tuberosus cultivés aseptiquement sont, en effet, très rameux dès la base et ont un aspect buissonnant caractéristique (IP. IV, fig. 1 et 2), rappelant celui des Pommes de terre



Fig. 3. — Parties basales d'*Orobus tuberosus* cultivés aseptiquement en gélose, montrant de nombreux rameaux aériens développés aux dépens des bourgeons du nœud cotylédonaire. — *t*, tégument de la graine ; *c*, cotylédons ; *b*, bourgeons en voie de différenciation. — Les plantules A, B, C et D sont âgées respectivement de quatre mois et demi, huit mois, neuf mois et un an. Gr. = 3,5.

étudiées plus haut, qui, après destruction totale de leurs endophytes, ont différencié leurs bourgeons adventifs en tiges feuillées non tubérisées.

16. **Développement en présence de l'endophyte.** — Le développement se fait selon un mode différent chez les plantes qui vivent en symbiose avec leur endophyte spécifique. Il est facile de réaliser l'infestation expérimentale des plantules : il suffit pour cela de semer des graines dans un sol prélevé dans une station naturelle, au pied d'*Orobis tuberosus* infestés. Chez les jeunes pieds cultivés ainsi, la pénétration du Champignon s'effectue dans les stades qui suivent la

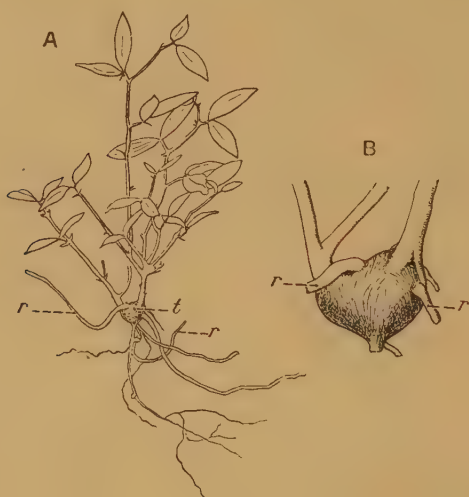


Fig. 4. — A, plantule d'*Orobis tuberosus*, âgée de cinq mois, développée en présence de l'endophyte : t, tubercule basilaire ; r, racines. Réduit aux 2/3 de la grandeur naturelle. — B, le tubercule de la même plante, grossi trois fois : r, racines.

germination, après la différenciation des premières racines ; mais ici toutes les plantes envahies contractent avec l'endophyte une association durable ; on n'observe pas chez l'Orobe, comme chez la Pomme de terre, de cas d'immunité précoce, où la plante détruit d'emblée, et en totalité, les microorganismes envahisseurs.

Chez ces plantes régulièrement infestées, les premiers stades du développement sont les mêmes que chez les plantules aseptiques ; la tigelle se différencie rapidement en une tige feuillée, puis un, ou rarement deux rameaux secondaires se développent à partir de bourgeons situés à l'aisselle des cotylédons. Après quoi, la différenciation des rameaux feuillés

basilaires s'interrompt, et la base de la tige, en une zone correspondant à l'insertion des cotylédons, se renfle en un petit tubercule en forme de toupie, de coloration brunâtre, semblable, toutes proportions gardées, aux tubercules de la plante adulte (fig. 4 et 5; Pl. V, fig. 1). Ce n'est qu'ultérieurement, après une période de repos plus ou moins prolongée, que ce tubercule peut « germer » en donnant une poussée de tiges feuillées aériennes (Pl. V, fig. 2). Après plusieurs mois de végétation, les plantes ainsi développées, avec leur appa-

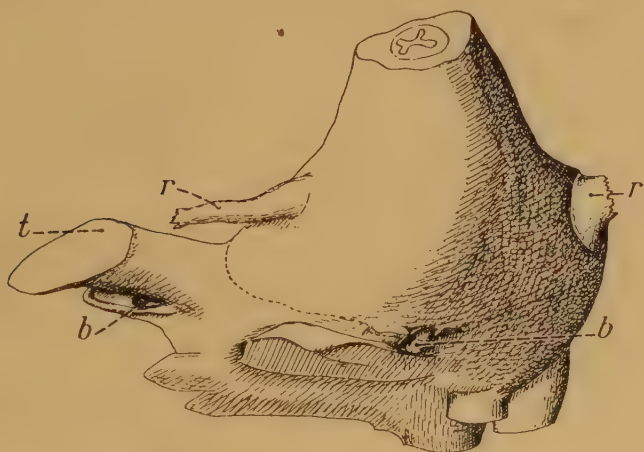


Fig. 5. — Tubercule basilaire d'une plantule d'*Orobanchaceae* développée en présence de l'endophyte. Reconstitution d'après des coupes en série. — *b*, bourgeons avortés ; *r*, racines ; *t*, tige secondaire. Le trait pointillé indique le niveau de la coupe représentée dans la planche V (fig. 3). Gr. = 17.

reil aérien réduit à deux tiges feuillées et leur tubercule basilaire, diffèrent profondément, par leur port, des plantes aseptiques de même âge, qui ont l'aspect de buissons touffus, abondamment ramifiés dès la base.

La structure du tubercule basilaire des jeunes plantes issues de graines est essentiellement la même que celle des tubercules plus volumineux des plantes adultes (Pl. V, fig. 3). Le système vasculaire, très réduit, se compose de quatre faisceaux libéro-ligneux étroits, disposés en croix et confluent au centre du tubercule ; entre les faisceaux, les rayons médullaires, qui représentent la plus grande partie de la masse du tubercule, sont formés par un parenchyme amy-

lacé, à grandes cellules isodiamétriques disposées en files radiales. Il existe une assise génératrice libéro-ligneuse. L'écorce, subérifiée sans ses couches superficielles, est amyli-fère dans la plus grande partie de son épaisseur. De plus, l'examen de coupes en série pratiquées au travers de tels tubercules montre qu'ils portent à leur surface, à des hauteurs diverses, des bourgeons rudimentaires, réduits à un méristème terminal et à quelques ébauches foliaires (fig. 5, et Pl. V, fig. 3). Les cellules de ces bourgeons ne manifestent aucune tendance à la différenciation ni à l'élongation; les divisions de leurs méristèmes aboutissent seulement à la formation de cellules isodiamétriques amyli-fères, qui contribuent à accroître l'épaisseur de l'écorce du tubercule. Chez les plantes aseptiques, la structure de la base de la tige est différente; on n'observe plus là, comme chez les plantes infestées, de retard dans la différenciation histologique et morphologique des points végétatifs; les bourgeons adventifs de l'aisselle des cotylédons s'allongent dès leur apparition en pousses feuillées, dont il est aisé de suivre le développement sur des coupes en série. De plus, l'écorce est ici moins épaisse, les faisceaux libéro-ligneux sont plus nombreux et plus développés que chez les plantes tubérisées; enfin le dépôt de grains d'amidon dans les cellules des rayons médullaires est irrégulier et faible. Seule, l'existence de formations secondaires libéro-ligneuses, qui est un trait de structure commun aux deux cas, rappelle les homologues de cette partie de la tige chez les plantes de l'un et de l'autre type.

17. **Expériences complémentaires.** — Les pieds d'*Orobis tuberosus* diffèrent donc par leur forme et par leur structure selon qu'ils sont ou non infestés. Toutefois, on peut objecter à l'expérience précédente que la symbiose n'est pas le seul facteur qui ait varié dans les deux lots de plantes. Le renouvellement de l'atmosphère est moins parfait dans les tubes bouchés au coton, où ont végété les plantules aseptiques, que dans les pots largement exposés à l'air, où les plantes infestées ont été cultivées; d'autre part, le milieu nutritif diffère dans les deux cas. Ces deux conditions peuvent n'avoir

pas été sans influence sur le mode du développement. Pour parer à cette objection, des graines en germination ont été transportées sur de la terre infestée placée au fond de tubes de mêmes dimensions que ceux où ont été faites les cultures aseptiques, et pareillement bouchés au coton. Le développement a été dans ces conditions moins exubérant que dans les pots, mais il s'est fait suivant le même type : la différen-

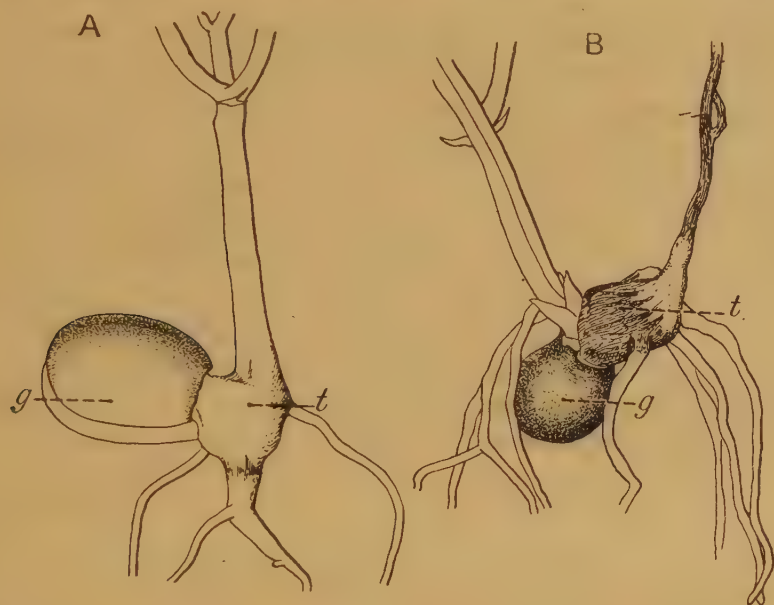


Fig. 6. — Parties basales d'*Orobus tuberosus*, cultivés en tubes en présence de l'endophyte. — g, graine ; t, tubercule. — A, plantule de huit mois ; B, plantule de neuf mois. Gr. = 3,5.

ciation des bourgeons de l'aisselle des cotylédons ne s'est pas produite, ou s'est interrompue après la formation d'un ou de deux rameaux secondaires, et un petit tubercule ayant la forme et la structure précédemment décrites s'est développé à la base de la tige (fig. 6, et Pl. IV, fig. 3). Une autre série de cultures a été faite dans des tubes renfermant de la terre de même provenance, mais stérilisée par chauffage à 120°. Ce milieu s'est montré très peu favorable aux jeunes plantes, qui n'y ont développé que des tiges naines, à feuilles réduites (Pl. IV, fig. 4) ; toutefois, chez les échantillons qui ont survécu, l'évolution, au point de vue qui nous occupe, a été la

même que chez les plantes cultivées aseptiquement en gélose : des tiges feuillées se sont développées successivement et en nombre indéfini à partir des bourgeons adventifs du nœud cotylédonaire, et aucun tubercule ne s'est formé à la base. Après ces vérifications complémentaires, l'existence d'une corrélation entre la symbiose et la tubérisation apparaît hautement vraisemblable.

18. **Comparaison de l'« *Orobus tuberosus* » et de la Pomme de terre.** — Le cycle évolutif de l'*Orobus tuberosus* est superposable, dans ses traits essentiels, à celui de la Pomme de terre. A une phase juvénile, caractérisée par le développement d'une tige feuillée (ou d'un petit nombre de tiges) de structure normale, succède dans les deux cas, chez les plantes infestées, une phase caractérisée par la tubérisation des bourgeons de la partie inférieure de la plante. Chez les plantes soustraites à l'action de l'endophyte, la phase de tubérisation n'existe pas ; les bourgeons adventifs basilaires développent des rameaux feuillés semblables à la tige principale. L'évolution des deux espèces diffère pourtant par deux traits importants. Chez la Pomme de terre, la tubérisation des rameaux basilaires se produit après une période d'élongation plus ou moins prolongée ; il en résulte que les tubercules sont portés à l'extrémité de stolons grêles plus ou moins longs. Chez l'*Orobus*, la tubérisation des bourgeons adventifs, plus précoce, n'est précédée d'aucune phase d'élongation, et les bourgeons tubérisés restent coalescents en une masse indivise, de telle sorte que le tubercule basilaire unique d'un *Orobus* issu de graine est homologue de la touffe de stolons tubérisés d'une Pomme de terre de même origine.

D'autre part, chez la Pomme de terre, dès que la tubérisation commence, les bourgeons aériens, déjà hautement différenciés, sont complètement arrêtés dans leur développement ; ils déploient encore les feuilles qu'ils avaient formées, et l'appareil aérien ne s'accroît plus notablement ensuite ; il ne tarde pas à se faner et à disparaître, ainsi que les racines. La plante reste alors réduite à ses bourgeons tubérisés, qui s'isolent dans le sol, et qui, à la saison suivante,

donnent une nouvelle poussée de tiges et de racines différenciées. Cette différenciation s'accompagne de la digestion des réserves accumulées dans le tubercule, qui dès lors commence à se flétrir et ne tarde pas à être complètement détruit. Les deux phases de différenciation et de tubérisation sont donc ici parfaitement distinctes, et la végétation est du type sympodial.

Chez l'Orobe, au contraire, le développement du tubercule ne s'accompagne pas de la destruction des tiges feuillées déjà développées, dont certaines peuvent persister encore lorsque commence, à la saison suivante, une nouvelle période de différenciation. Cette différenciation même n'entraîne pas la destruction du tubercule déjà formé ; ce dernier, en même temps qu'il développe ses bourgeons en tiges feuillées, continue à s'accroître par le jeu des formations secondaires. Les deux phases alternantes de différenciation et de tubérisation, au lieu d'être nettement séparées comme chez la Pomme de terre, empiètent l'une sur l'autre. Le cycle évolutif est caractérisé ici par la croissance indéfinie d'une partie de la tige principale, et ce n'est que tardivement, au moment de la tubérisation des stolons, qu'il s'établit un mode de végétation conforme au type sympodial.

Il reste à examiner si, à ces différences dans le cycle évolutif des deux plantes, correspondent des différences dans la modalité de la symbiose chez l'une et l'autre espèce.

19. Symbiose périodique et symbiose continue. — A de rares exceptions près, chez les plantes à mycorhizes, les endophytes restent strictement localisés dans les racines ; les tubercules, les tiges souterraines et aériennes sont constamment indemnes d'infestation. Il en résulte qu'une Pomme de terre, pendant la période de sa vie où elle est réduite à un tubercule isolé dans le sol, et dépourvu de racines, n'héberge pas de Champignons. C'est à la fin de cette phase de vie autonome que se différencie l'appareil aérien ; en même temps, les racines poussent et s'accroissent, et l'infestation peut se produire. Dès que, par suite du développement des racines, elle a atteint un certain degré, le mode de

végétation change, et les tubercules commencent à se former. Il y a donc ici symbiose intermittente, et à l'alternance des phases d'autonomie et d'infestation correspond une alternance non moins marquée de phases de différenciation et de tubérisation.

Chez l'*Orobus tuberosus*, au contraire, le système radical, au lieu de disparaître périodiquement tous les ans, persiste d'une année à l'autre. Si l'on déterre un pied d'Orobe au cours ou à la fin de l'hiver, en février ou mars, avant la poussée des jeunes racines du printemps, on le trouve porteur d'un chevelu de racines noires, relativement épaisses, pourvues de quelques nodosités bactériennes vidées ; ce sont là manifestement, comme l'indiquent au surplus leur différenciation ligneuse prononcée et l'exfoliation partielle de leur écorce, des racines de l'année précédente qui ont persisté dans le sol. Dans ces racines, l'endophyte est abondamment représenté par d'énormes filaments mycéliens, de calibre irrégulier, enkystés dans d'épaisses membranes à double contour, surecolorables (Pl. VII, fig. 2, k). Ces filaments enkystés sont bien des formes vivantes du Champignon, car ils sont pourvus, le plus souvent, d'un protoplasma réticulé et de noyaux. Ils représentent des formes de résistance, capables d'hiverner dans les racines et, le printemps venu, de servir de point de départ à une invasion nouvelle, ainsi qu'en témoigne la présence, à leur voisinage immédiat, de mycélium jeune, à membrane mince, aux dépens duquel des arbuscules commencent à se former (Pl. VII, fig. 2, m. a).

Il résulte de ces constatations que l'*Orobus tuberosus*, une fois infesté dans les premiers stades de son développement, héberge des Champignons vivants pendant tout le cours de sa vie. L'état de symbiose devient pour lui une condition de vie continue au lieu de n'être, comme chez la Pomme de terre, qu'une condition périodique. Cette continuité de la symbiose s'accompagne, chez l'Orobe, d'un mode de végétation particulier, caractérisé par la persistance des tubercules, qui, au lieu de disparaître au moment de la poussée des tiges différenciées, continuent à s'accroître indéfiniment.

La relation qui existe chez l'*Orobus tuberosus* entre la symbiose continue et le développement indéfini d'une partie de la tige primitive vérifie, dans un cas particulier, une loi générale, que Noël BERNARD a déduite de ses recherches sur les Orchidées. Chez la plupart des plantes de cette famille, la symbiose est intermittente, et elle a pour corollaire une végétation de type sympodial. Mais chez certaines Orchidées hautement différenciées, qu'il s'agisse de plantes épiphytes comme les Sarcanthinées, ou terrestres comme le *Neottia Nidus-avis*, la symbiose, par suite de la croissance prolongée et de la persistance des racines, devient continue. « La continuité de l'état de symbiose, dit Noël BERNARD [5], s'accompagne chez ces plantes d'un mode de végétation exceptionnel chez les Orchidées, mais manifestement secondaire et non primitif, puisqu'on le rencontre chez les plantes les plus évoluées de la famille. Au lieu qu'il pousse des tiges aériennes successives, enchainées en sympode par l'intermédiaire de portions de rhizomes, il y a ici une tige unique à croissance indéfinie, qui naît du premier bourgeon différencié sur le protocorme et qui produit seulement des inflorescences latérales. La végétation est, comme on dit, devenue monopodiale. »

20. **Précocité de la tubérisation.** — Les cas de symbiose continue, où les deux organismes commensaux évoluent dans un état d'union intime et ininterrompue, représentent, sur les cas de symbiose intermittente, un progrès dans l'adaptation réciproque du Champignon et de la plante à la vie commune. En fait, chez l'endophyte de l'Orobe, la propriété de végéter dans les cellules vivantes de l'hôte, ou, si l'on veut, la « virulence », est un caractère plus constant que chez l'endophyte des *Solanum* : ce dernier, comme on l'a vu, ne parvient pas dans tous les cas à surmonter les difficultés de la vie commune et est parfois détruit dès ses premières tentatives de pénétration; au contraire, tous les pieds d'*Orobus tuberosus* exposés à l'atteinte de l'endophyte spécifique contractent avec lui une symbiose durable. Or Noël BERNARD [5] a montré, par de belles expériences sur le *Bletilla hyacinthina*, que l'accroissement de la virulence des Champignons en-

trainait une formation de plus en plus précoce des tubercules. Partant de là, il est naturel de supposer que, chez l'Orobe, la tubérisation précoce des bourgeons de la base de la tige peut être liée au degré de virulence du Champignon.

Ainsi la théorie de Noël BERNARD permet de rendre compte des divergences relevées dans le cycle évolutif de deux plantes à tubercules telles que la Pomme de terre et l'*Orobis tuberosus*.

21. **Immunité de l'« *Orobis coccineus* ».** — On sait qu'en règle générale les plantes annuelles, dépourvues de tubercules, sont également dépourvues de mycorhizes, tandis que les plantes vivaces en présentent régulièrement, au moins à l'état sauvage. D'autre part, la spécificité des Champignons n'est généralement pas rigoureuse; l'exemple des Solanées et celui des Orchidées montrent qu'un même endophyte peut être commun à plusieurs espèces d'un même genre, ou même, à plusieurs genres d'une même famille. Il était donc intéressant, au point de vue des rapports de la symbiose et de la tubérisation, de rechercher comment un congénère annuel de l'*Orobis tuberosus* réagirait en présence de l'endophyte de cette dernière espèce.

A cet effet, des graines d'un Orobe annuel (*Orobis coccineus* Mill. = *Lathyrus sphæricus* Retz) ont été semées dans des pots renfermant de la terre prélevée dans les bois de Chaville, au pied d'*Orobis tuberosus* abondamment infestés. Comparativement, des semis aseptiques de la même espèce ont été faits dans des tubes renfermant le milieu nutritif gélosé qui avait servi pour la culture d'*Orobis tuberosus*. Les graines ont germé rapidement, et les plantes des deux lots sont rapidement devenues très rameuses dès la base; elles ont donc adopté un mode de végétation comparable à celui de l'*Orobis tuberosus* aseptique, à cela près que les rameaux secondaires, au lieu de naître de l'aisselle des cotylédons, provenaient de bourgeons situés au niveau du premier nœud foliaire de la tige.

Des plantes du lot infesté ont été récoltées, en vue de l'étude des racines, au bout de temps qui ont varié de quarante à cent trente et un jours après le semis. Passé ce dernier délai,

les Orobés avaient mûri leurs fruits. L'examen de coupes en séries pratiquées dans les racines des plantes soumises à l'expérience montre qu'au début (plante de quarante jours) l'*Orobus coccineus* se laisse largement envahir par le Champignon endophyte, qui se présente dans l'écorce des racines sous le même aspect que chez l'*Orobus tuberosus* : troncs mycéliens intercellulaires à protoplasma réticulé, arbuscules intracellulaires à fines ramifications dichotomiques. Mais, à cette phase d'invasion étendue succède rapidement une réaction phagocytaire brutale de la plante, qui a pour effet de détruire la totalité du Champignon. Chez des échantillons prélevés soixante-dix jours après le semis, la plupart des racines se montrent envahies, mais partout les Champignons ont atteint le stade ultime de la destruction : ils sont réduits à de petits corps de dégénérescence surcolorables, n'occupant plus qu'une portion minime des cellules qui les renferment (Pl. VII, fig. 3). Les troncs mycéliens ne sont généralement plus reconnaissables ; parfois, pourtant, il en subsiste des vestiges, sous forme de filaments rétractés, surcolorables, vidés de leur contenu protoplasmique (Pl. VII, fig. 4).

Chez l'Orobe annuel, l'invasion de l'endophyte n'aboutit donc qu'à la production d'une association instable et fugace, tandis que, chez l'Orobe à tubercules, l'infestation des racines réalisée au début du développement se maintient pendant toute la durée de l'évolution de la plante (1).

Le cas de l'*Orobus coccineus* complète le parallélisme entre l'histoire des Pommes de terre et celle des Orobés. Chez l'*Orobus* annuel, comme chez les Pommes de terre qui ne donnent pas de tubercules, l'endophyte est bien capable de pénétrer dans les racines, mais il y est aussitôt détruit en totalité par une réaction phagocytaire brutale de la plante. Chez l'*Orobus tuberosus*, comme chez les Pommes de terre tubérisées, la réaction phagocytaire n'atteint que les arbuscules ; elle respecte les troncs mycéliens principaux, qui continuent à propager l'infestation, et la symbiose peut s'établir. Une différence est pourtant à noter entre les deux cas : chez les

(1) Les tableaux résumant les examens microscopiques de racines d'*Orobus* sont donnés en appendice.

Pommes de terre douées d'immunité précoce, l'invasion du Champignon qui précède la guérison est toujours extrêmement limitée ; elle est au contraire généralisée chez l'*Orobis coccineus*. L'étude comparée des mécanismes de l'immunité chez les plantes à mycorhizes fera l'objet du chapitre IV ; on y retrouvera, chez des plantes diverses, des exemples équivalents de guérisons radicales succédant à des invasions plus ou moins étendues.

CHAPITRE III

RELATION ENTRE LA SYMBIOSE ET LE MODE DE VÉGÉTATION. -- CAS DES MERCURIALES

22. **Dimorphisme et symbiose.**— Les deux plantes vivaces étudiées dans les chapitres précédents (*Solanum tuberosum*, *Orob. tuberosus*) sont capables, comme on l'a vu, d'adopter deux modes de végétations différents, que l'on peut schématiser comme il suit :

Ou bien il se développe une tige feuillée aérienne unique ; les bourgeons situés à la base de cette tige cessent plus ou moins précocement de se différencier et se renflent en tubercules ;

Ou bien les bourgeons de la base de la tige se différencient en rameaux feuillés ; la plante est rameuse dès la base et n'a pas de tubercules.

Il y a coïncidence, tout au moins à l'état de vie sauvage, entre le premier type de végétation et la présence dans les racines de Champignons endophytes ; entre le second type et l'absence (ou la destruction totale) de ces mêmes Champignons.

Des exemples d'un semblable dimorphisme ont été signalés chez les Ophrydées. En règle générale, une Ophrydée développe chaque année une tige aérienne unique : les bourgeons axillaires de la base de cette tige ne se différencient pas, et l'un d'eux au moins se renfle en tubercule. Mais il peut arriver exceptionnellement que l'un des bourgeons basilaires, ou plusieurs d'entre eux, se différencient en rameaux feuillés ; la plante est alors ramifiée dès sa base et ne produit pas de tubercules. J.-H. FABRE [16] a décrit un pied d'*Himantoglossum*

hircinum (= *Loroglossum hircinum*), dont trois bourgeons axillaires s'étaient ainsi développés en rameaux. Noël BERNARD [1] a étudié un échantillon d'*Orchis maculata*, qui, en outre de sa tige principale, présentait un rameau de second ordre provenant du développement d'un bourgeon axillaire ; ce dernier, au lieu d'évoluer en tubercule, s'était différencié en tige feuillée aérienne. Or les deux Orchidées ramifiées et non tubérisées dont il s'agit étaient dépourvues de racines absorbantes et, par conséquent, n'étaient pas infestées. Il apparaît donc que, chez les Ophrydées comme chez les deux espèces précédentes, il y a une relation entre la symbiose et le port de la plante.

23. **Les Mercuriales.** — Il existe dans la nature des exemples d'espèces voisines mais distinctes, qui ne diffèrent guère entre elles que par des caractères végétatifs de même ordre. Telles sont les deux Mercuriales communes dans nos contrées : le *Mercurialis perennis* et le *Mercurialis annua*. L'organisation de la fleur, le type de l'inflorescence sont les mêmes chez l'une et l'autre espèce ; les caractères différentiels des deux plantes (différences dans la longueur du pédoncule des fleurs femelles, dans les dimensions des graines, dans la nuance du feuillage) sont des plus minimales. Aussi les flores distinguent-elles les deux espèces essentiellement par leur port : le *Mercurialis perennis* a des rhizomes souterrains épais et une tige florifère *non ramifiée dès la base* ; le *Mercurialis annua* n'a pas de rhizome, et sa tige florifère est *ramifiée dès la base*. La première, avec sa tige feuillée unique et les rhizomes pérennants, homologues de tubercules, qui dérivent de ses bourgeons basilaires, est comparable aux Orobes, aux Pommes de terre et aux Ophrydées tubérisées qui vivent en symbiose avec leurs endophytes spécifiques. La seconde, avec ses bourgeons basilaires différenciés en tiges feuillées aériennes, correspond, par son mode de végétation, aux mêmes plantes soustraites artificiellement à l'action des Champignons (fig. 7).

Il était intéressant de vérifier si, dans le cas des Mercuriales, qui représente en quelque sorte une expérience réalisée

par la nature, on retrouverait la même relation entre le type de végétation et l'infestation.



Fig. 7. — Dimorphisme et symbiose. — A à D, plantes scumises à la symbiose ; A' à D', plantes soustraites à la symbiose. — A, A', *Solanum tuberosum* ; B, B', *Orobos tuberosus* ; C, C', *Orchis maculata* ; D, *Mercurialis perennis* ; D', *Mercurialis annua*. — t, tubercules ; rh, rhizomes ; b (fig. C'), tige principale d'*Orchis maculata* ; b', bourgeon de second ordre développé en rameau. C et C' d'après Noël BERNARD.

24. La symbiose chez le « *Mercurialis perennis* ». — A cet effet, des pieds de *Mercurialis perennis* et de *Mercurialis annua* ont été récoltés dans des stations variées et à des

époques diverses, et des coupes en série ont été pratiquées dans les racines des deux espèces. La *Mercuriale* vivace a des racines de deux sortes : les unes paisses, de 2 millimètres de diamètre environ; les autres fines, abondamment ramifiées. Les grosses racines ne sont pas infestées; les fines le sont au contraire régulièrement et abondamment, par un endophyte de même type que celui des *Solanum*. Les filaments mycéliens principaux de ce Champignon envahissent largement les cellules de l'assise moyenne de l'écorce; ils y forment des pelotons, ou rampent en ligne droite le long des membranes cellulaires. Ils ne sont pas cloisonnés et ont un protoplasma réticulé, souvent semé de nombreux noyaux. Parmi ces filaments, les uns sont à paroi mince; les autres sont enkystés dans d'épaisses membranes à double contour (Pl. VIII, fig. 1). Ces derniers se renflent souvent de manière à constituer des vésicules volumineuses, qui arrivent à remplir la cavité des cellules qu'elles occupent. Ces vésicules, de forme généralement irrégulière, bourgeonnantes ou biloculaires, sont, comme les filaments dont elles dérivent, enkystées dans des membranes à double contour et pourvues d'un protoplasma réticulé multinucléé (Pl. VIII, fig. 2). De semblables formations sont communes dans les mycorhizes, et leur signification a été longtemps discutée. Noël BERNARD [9] ayant réussi à en isoler de racines de *Solanum dulcamara* et ayant obtenu leur germination en goutte pendante, a démontré par là que ces vésicules étaient des organes multiplicateurs des endophytes.

Les gros troncs mycéliens se ramifient à l'intérieur des cellules pour constituer des arbuscules très touffus, que l'on peut observer chez une même plante aux divers stades de leur évolution. Les uns sont formés de ramuscules parfaitement distincts; d'autres, plus ou moins altérés, sont d'aspect nuageux, ou sont transformés plus ou moins complètement en sporangioles ou en corps de dégénérescence. Mais, quel que soit l'état de destruction des arbuscules, les hyphes principales, restées bien vivantes et très abondantes, continuent à propager l'infestation (Pl. VIII, fig. 3), tandis que les filaments enkystés et les vésicules assurent la péren-

nance du Champignon. Chez le *Mercurialis perennis*, une symbiose bien établie existe donc entre l'endophyte et la plante.

25. **Immunité du « *Mercurialis annua* ».** — Il n'en est pas de même chez le *Mercurialis annua*. Ici encore, on retrouve bien, dans les racines, des Champignons, plus ou moins abondants suivant les pieds considérés, mais, contrairement à ce que l'on observe chez le *Mercurialis perennis*, les formes vivantes de l'endophyte, et notamment les gros troncs mycéliens, sont extrêmement rares ; on observe surtout des arbuscules en voie de destruction avancée, complètement transformés en corps de dégénérescence, ou réduits à l'état de vestiges profondément altérés (Pl. VIII, fig. 4). Les filaments enkystés et les vésicules font totalement défaut (1). Au lieu qu'un équilibre compatible avec la symbiose s'établisse, comme chez l'espèce vivace, entre l'endophyte et son hôte, il se produit dans ce cas une destruction brutale et complète du Champignon, succédant à une invasion plus ou moins étendue. Le cas est exactement superposable à celui de l'*Orobus coccineus*, ou à celui de Pommes de terre douées d'immunité précoce, qui, après destruction totale des Champignons envahisseurs, évoluent sans produire de tubercules.

Ainsi on retrouve chez les Mercuriales qui croissent spontanément dans la nature la même relation entre la symbiose et le type de développement, que l'expérience a permis de déceler chez la Pomme de terre, chez l'*Orobus tuberosus* et chez les Ophrydées. Ce fait suggère que des espèces distinctes ont pu, au cours des âges, dériver d'ancêtres communs, dont certaines races se seraient adaptées à la symbiose avec des Champignons endophytes, tandis que d'autres auraient joui d'une immunité complète vis-à-vis des mêmes microorganismes.

(1) Voir en appendice les tableaux résumant les observations microscopiques.

CHAPITRE IV

L'IMMUNITÉ DANS LA SYMBIOSE

26. **Virulence et résistance.** — Les exemples qui précèdent montrent que les rapports entre les endophytes et les plantes qui les hébergent peuvent être de diverses sortes. Les Champignons de mycorhizes sont capables de se développer dans l'organisme de leurs hôtes : cette « végétabilité *in vivo* » est la propriété que l'on désigne chez les microbes sous le nom de « virulence ». D'autre part, les plantes attaquées résistent à l'invasion des Champignons ; les moyens de résistance, plus ou moins efficaces, par lesquels l'organisme s'oppose à la pénétration des envahisseurs ou limite leurs progrès, constituent les réactions d'immunité. C'est du rapport, variable selon les cas, entre la virulence et la résistance, que dépend en définitive le sort de l'association des deux commensaux. Si la résistance est la plus forte, le Champignon est détruit en totalité après une invasion plus ou moins étendue. Si la virulence l'emporte, le Champignon pénètre indistinctement tous les tissus de la plante, sans respecter ses organes essentiels, et finit par la détruire. Si enfin résistance et virulence s'équilibrent, la plante tolère le Champignon, l'association se prolonge indéfiniment et la symbiose s'établit. La symbiose apparaît donc comme un état d'équilibre entre la maladie curable, où la plante guérit après une réaction d'immunité efficace, et la maladie mortelle, où elle succombe sans avoir opposé au microorganisme envahisseur une résistance suffisante.

J'étudierai dans ce chapitre les réactions d'immunité par lesquelles les plantes résistent aux Champignons symbiotiques. Chez les espèces qui font l'objet du présent tra-

vail, ces réactions sont essentiellement celles que Noël BERNARD a décrites chez les Orchidées. Des mécanismes équivalents sont mis en œuvre, comme il ressort de travaux récents, dans la symbiose lichénique. Enfin, des processus de résistance comparables se retrouvent chez les animaux, au cours des maladies infectieuses. L'étude de la symbiose permet donc, comme l'avait prévu Noël BERNARD, de dégager des lois de pathologie générale communes aux animaux et aux plantes.

27. Résistance mécanique. — La résistance des parois cellulaires des racines oppose à la pénétration des Champignons de mycorhizes un premier obstacle, qui réalise une immunité en quelque sorte mécanique. Cette protection mécanique suffit à mettre les racines à l'abri de l'invasion de la plupart des microorganismes qui pullulent dans le sol; mais elle est sans effet durable contre les attaques des endophytes spécifiques.

La phase de pénétration du Champignon est d'ailleurs malaisée à observer; je n'ai réussi à l'apercevoir que très rarement, bien qu'ayant examiné un très grand nombre de coupes de mycorhizes. Ce fait indique que les Champignons peuvent envahir largement les racines d'une plante, après les avoir pénétrées en un nombre de points relativement restreint.

C'est chez les *Solanum* que les figures de pénétration de l'endophyte ont pu être observées avec le plus de précision. Noël BERNARD [9] les a décrites chez la Douce-Amère, et je les ai retrouvées, avec des caractères identiques, chez la Pomme de terre. Chez l'une et l'autre de ces plantes, le Champignon aborde les jeunes racines dans leurs portions déjà accrues et différenciées, au niveau de la zone des poils absorbants. La paroi cellulosique mince de l'assise pilifère est traversée sans difficulté, mais l'assise subéreuse sous-jacente oppose au mycélium une résistance plus sérieuse, que ce dernier parvient à surmonter par un processus très singulier.

Parvenu dans les cellules de l'assise pilifère, le Champignon y forme des dilatations vésiculeuses, qui se découpent par des incisures en digitations orientées vers l'assise subéreuse

Ces digitations se développent en disques adhésifs appliqués contre la paroi cellulaire et émettent des bourgeons qui pénètrent en coin dans la membrane subérifiée, l'invaginent et finalement la digèrent (Pl. VI, fig. 1). Par la brèche ainsi produite, le mycélium s'introduit dans les cellules de l'assise subéreuse ; il les traverse en ligne droite, après avoir repris son calibre normal, et atteint l'assise corticale sous-jacente.

28. **La phagocytose.** — La résistance passive opposée par les membranes cellulaires étant ainsi surmontée, la plante commence à réagir activement à la présence du Champignon. Le cas où cette réaction s'exerce avec le maximum d'efficacité est représenté par les Pommes de terre sans tubercules, qui détruisent complètement les Champignons dès leurs premières tentatives d'invasion.

Dans ce cas, le mycélium, parvenu dans l'assise moyenne de l'écorce, commence, comme à l'ordinaire, à s'y pelotonner. Mais les pelotons, à peine constitués, sont digérés par les cellules qui les renferment et dégènèrent complètement. Les troncs mycéliens qui les forment, après avoir subi la digestion intracellulaire, restent reconnaissables par leur forme générale, mais ont perdu tous les traits de structure qui caractérisent le mycélium vivant : leur contenu protoplasmique a disparu ; leurs membranes sont rétractées et surcolorables (Pl. VI, fig. 6). Grâce à la réaction énergique des éléments envahis, la progression du Champignon est rapidement enrayée ; à peine les filaments ont-ils pénétré quelques cellules qu'ils sont mis hors d'état de se propager plus loin ; aussi ne peuvent-ils donner lieu qu'à des infestations insignifiantes et fugaces.

Le processus de digestion intracellulaire auquel succombent en pareil cas les Champignons est à rapprocher de la phagocytose, qui, chez les animaux, détruit les microbes qui tentent de pulluler dans l'organisme. Assurément, on ne peut s'attendre à observer chez les végétaux, formés de cellules fixes et rigides, la capture des microorganismes par des éléments mobiles, qui, chez les animaux, représente le premier acte de la phagocytose. Mais l'essentiel du phénomène, qui est

la digestion des parasites par les cellules où ils ont pénétré, se retrouve ici avec assez de netteté pour rendre le rapprochement légitime. Ce rapprochement avait été fait par M. GALAUD [17], qui a étudié la digestion intracellulaire chez un grand nombre de plantes à mycorhizes. Il a été précisé par Noël BERNARD [5, 6], dont les travaux sur les Orchidées fournissent des exemples de « guérison » par phagocytose, succédant à des atteintes légères, exactement équivalents à ce que l'on observe chez le *Solanum tuberosum*.

Lorsqu'on inocule, en effet, des semis de *Bletilla hyacinthina* ou de Cattleyées avec l'endophyte habituel de ces plantes (*Rhizoctonia repens*), dont l'activité a été atténuée par un séjour suffisamment prolongé en culture pure (1), le mycélium pénètre bien quelques cellules des embryons, mais il y est rapidement détruit par phagocytose et ne produit ainsi qu'une infestation très restreinte. Dans les coupes de tels embryons, au lieu de voir, comme dans la symbiose normale, une zone infestée vaste et formée de pelotons vivants, on aperçoit seulement un petit nombre de cellules

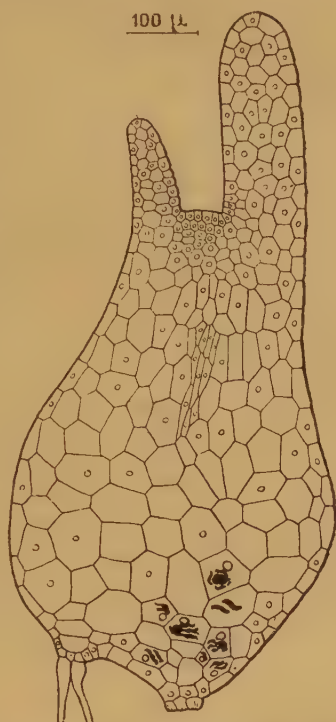


Fig. 8. — Coupe longitudinale dans une plantule de *Bletilla hyacinthina* âgée d'un mois, inoculée avec un mycélium atténué de *Rhizoctonia repens*; dans quelques cellules de la région inférieure, on voit du mycélium digéré à côté du noyau. D'après Noël BERNARD.

(1) On sait que l'activité des Rhizoctones, autrement dit leur pouvoir de faire germer les graines, s'atténue quand ces Champignons sont conservés depuis un certain temps en culture pure; l'activité perdue peut, d'autre part, être récupérée par passages successifs chez des embryons d'Orchidées. Ces faits, découverts par Noël BERNARD [5], sont à mettre en parallèle avec les phénomènes d'atténuation et d'exaltation de virulence observés chez les Bactéries par PASTEUR, CHAMBERLAND et ROUX [36]. Un tel rapprochement complète l'analogie entre la symbiose et les infections animales.

occupées par des pelotons complètement digérés, accolés aux noyaux cellulaires (fig. 8). Le groupe des *Solanum*, en dehors du cas des Pommes de terre sans tubercules, fournit un autre exemple d'une immunité de même ordre : tandis que les *Solanum* vivaces vivent communément en symbiose avec des Champignons de mycorhizes, le *Solanum nigrum*, comme il est de règle chez les plantes annuelles, résiste à ces mêmes Champignons ; chez des pieds de *Solanum nigrum* récoltés dans des stations naturelles variées, je n'ai pu trouver, après un examen minutieux, que des plages infestées rares et restreintes, formées de Champignons dégénérés.

Tous ces cas, où, grâce à une phagocytose précoce, les plantes s'affranchissent des Champignons dès leurs premières tentatives d'invasion, sont à mettre en parallèle avec les cas d'immunité observés chez les animaux, qui guérissent de maladies accidentelles bénignes après destruction des microbes par les phagocytes.

Lors même que la plante se laisse d'abord largement envahir par le Champignon, la phagocytose peut encore s'exercer de manière efficace. L'*Orobis coccineus* fournit un exemple de ce nouveau mode d'immunité cellulaire, secondaire à une infestation étendue.

Les échantillons de cette espèce, mis en contact avec l'endophyte de l'*Orobis tuberosus*, sont précocement envahis par le Champignon, qui prend dans l'écorce des racines un développement exubérant et forme de nombreux arbuscules intracellulaires. Il semble donc qu'une symbiose bien caractérisée va s'établir, quand, brusquement, il se produit une réaction phagocytaire brutale ; tous les arbuscules sont digérés et réduits à l'état de corps de dégénérescence rétractés ; les troncs mycéliens principaux eux-mêmes disparaissent, ou ne subsistent qu'à l'état de rares vestiges complètement dégénérés (Pl. VII, fig. 3 et 4). L'infestation est dès lors définitivement enrayée, et la plante achève son développement à l'état de vie autonome. Les choses se passent de même chez le *Mercurialis annua* ; ici encore, la croissance intracellulaire de l'endophyte est au début rapide, et les arbuscules caractéristiques de la symbiose se développent en

grand nombre, mais une phagocytose énergique ne tarde pas à intervenir, qui réduit à l'état de vestiges méconnaissables tous les pelotons et arbuscules formés (Pl. VIII, fig. 4).

Ce type d'immunité a encore son équivalent dans les expériences de Noël BERNARD sur les Orchidées [5]. Si l'on tente d'associer des embryons de Cattléées avec le *Rhizoctonia mucoroides*, endophyte des *Phalænopsis* et des *Vanda*, on constate au début une progression anormalement rapide de l'endophyte, qui occupe dans la plantule une zone étendue. Mais, après cette invasion trop rapide, il se produit une réaction phagocytaire qui détruit tous les pelotons ; les plantules ne renferment dès lors plus de mycélium vivant, et elles poursuivent quelque temps leur développement à l'état autonome.

Dans ces divers cas d'associations anormales, les choses se passent au début comme si la vie commune devait se prolonger. Mais, par la suite, les conditions d'équilibre compatibles avec la symbiose ne parviennent pas à s'établir ; quelle que soit l'importance que prend primitivement le développement de l'endophyte, la plante réussit à s'en affranchir par la seule action de la phagocytose.

29. Insuffisance de la phagocytose. — Il n'en est pas de même dans les cas de symbiose proprement dite ; ici encore, la phagocytose s'exerce, mais elle ne suffit plus à enrayer l'infestation, et c'est par d'autres processus d'immunité que la plante limite en définitive l'extension du Champignon. C'est ce qui arrive chez la Pomme de terre, lorsque cette plante tolère la vie commune prolongée avec ses hôtes.

Dans ce cas, le mycélium, au lieu d'être précocement détruit par phagocytose, continue à progresser, en se pelotonnant, dans les cellules de l'assise moyenne de l'écorce (Pl. VI, fig. 2), où il forme des plages infestées étendues, entourant comme d'un manchon les parties plus profondes de la racine. Des arbuscules complexes se constituent ensuite dans chaque cellule, par divisions dichotomiques répétées des rameaux secondaires du mycélium (Pl. VI, fig. 3). Ce n'est que tardivement, et après que les arbuscules ont atteint

leur complet développement, que la phagocytose commence à intervenir. Elle s'attaque d'abord aux extrémités des fins rameaux dichotomes, qui, subissant la digestion intracellulaire, se rétractent, s'agglutinent et finalement se transforment en sporangioles, petites masses multilobées, réfringentes et surcolorables, appendues aux rameaux des arbuscules (Pl. VI, fig. 4). La phagocytose poursuivant son œuvre, les sporangioles augmentent de volume, deviennent confluentes et arrivent à former des corps de dégénérescence volumineux, mamelonnés, qui occupent toute la cavité des cellules. Mais, dans le cas même où la digestion des arbuscules atteint cette phase ultime, les troncs mycéliens principaux ne sont pas détruits ; ils restent bien vivants, et l'on distingue, aussi nettement qu'aux premiers stades de l'infestation, leur protoplasma réticulé et même leurs noyaux (Pl. VI, fig. 5, *n'*). Or la progression du Champignon s'effectue non par les arbuscules, dont les fines ramifications sont incapables de traverser les cloisons cellulodiques, mais par les gros troncs mycéliens. La phagocytose respectant ici les organes qui servent à la propagation du Champignon, on conçoit qu'elle soit impuissante à enrayer sa marche ; à partir de cellules où les arbuscules sont totalement dégénérés, on peut voir les filaments principaux restés intacts, propager l'infestation dans les cellules voisines (Pl. VI, fig. 5).

C'est encore la résistance des troncs mycéliens à la phagocytose qui permet à la symbiose de s'établir chez l'*Orobùs tuberosus* et le *Mercurialis perennis*. Chez l'*Orobùs tuberosus*, les gros filaments, au lieu de pénétrer d'emblée dans les cellules et de s'y pelotonner, commencent par cheminer en droite ligne dans les méats intercellulaires ; ils émettent de là des ramifications à angle droit, qui envahissent les cellules corticales et y forment des pelotons et des arbuscules (Pl. VII, fig. 1). C'est alors seulement que la phagocytose entre en scène ; comme dans le cas précédent, elle se limite électivement aux arbuscules, et, grâce aux hyphes principales restées intactes, l'infection continue à s'étendre. Mais ici, en outre du mycélium à paroi mince par lequel l'endophyte se propage, il se différencie des filaments enkystés, plus résistants

encore, qui assurent la pérennance du Champignon (Pl. VII, fig. 2).

Chez le *Mercurialis perennis*, les troncs mycéliens principaux forment, comme chez le *Solanum tuberosum*, des pelotons intracellulaires peu serrés ; ils résistent à la phagocytose et se différencient, comme chez l'*Orobancha tuberosa*, en filaments à membrane mince, qui assurent l'extension de l'endophyte, et en organes de pérennance enkystés (Pl. VIII, fig. 1 à 3).

Dans ces trois cas, si une association stable parvient à se réaliser, c'est grâce à l'insuffisance de la phagocytose, qui, s'exerçant de façon tardive et partielle, ne s'attaque pas aux organes qui permettent au Champignon de progresser dans les racines. Chez les Orchidées, l'établissement de la symbiose est de même lié à une réaction phagocytaire tardive et lente, qui laisse au mycélium le temps de poursuivre ses progrès. Si l'on inocule des semis de *Phalænopsis* avec le *Rhizoctonia mucoroides* [5, 6], le Champignon pénètre les embryons, qui commencent dès lors à se développer ; il se forme au pôle postérieur de la plantule une plage infestée où les pelotons ne subissent aucune dégénérescence. La fonction phagocytaire est ici dévolue à des cellules spécialisées, reconnaissables à leur noyau multilobé, qui se différencient en arrière du méristème terminal. Dès que le Champignon atteint cette zone de phagocytes, il subit la digestion intracellulaire, mais cette digestion n'est pas assez rapide pour protéger la partie antérieure de l'embryon ; quelques filaments, échappés à la destruction, pénètrent les cellules situées plus avant et poursuivent leur progression jusqu'au moment où une nouvelle barrière de phagocytes ralentit à nouveau leur marche, sans parvenir à l'enrayer (1).

30. **L'immunité humorale.** — De la comparaison des divers cas qui viennent d'être rapportés, il résulte que la

(1) Il n'en va pas de même lorsque, dans cette expérience, on substitue au *Rhizoctonia mucoroides* le *Rhizoctonia lanuginosa*, endophyte des *Odontoglossum*, incapable de s'adapter à la symbiose avec le *Phalænopsis*. Ce Champignon, comme le précédent, forme au pôle postérieur de l'embryon une plage infestée où les pelotons restent vivants, mais, dès qu'il envahit les phagocytes situés en avant de cette zone, il y est rapidement digéré, et sa progression est enrayerée définitivement [5, 6].

phagocytose, lorsqu'elle s'exerce de façon suffisamment rapide et énergique, suffit à protéger les plantes contre l'invasion des Champignons. Mais, si elle s'exerce de façon tardive, partielle et lente, si elle respecte les organes qui servent à la progression de l'endophyte, elle est impuissante à enrayer sa marche, et une association stable peut s'établir. Pourtant, dans ce cas même, le Champignon reste strictement localisé dans des tissus bien déterminés des plantes : les méristèmes, en particulier, ne sont jamais atteints ; le cylindre central des racines, les tubercules, les tiges aériennes et (sauf exception) les tiges souterraines restent toujours indemnes d'infestation. Il persiste donc, dans la symbiose la mieux établie, un certain degré d'immunité, qui a pour effet d'imposer des limites à l'extension du Champignon et de protéger les tissus essentiels de la plante. La phagocytose n'étant plus en pareil cas un moyen de protection efficace, il faut chercher une autre cause à cette immunité.

Noël BERNARD [5, 6] l'attribue aux modes de végétation très particuliers que les Champignons symbiotiques adoptent dans la vie commune et qui ont pour effet de ralentir leur marche. Le pelotonnement empêche le mycélium de progresser par le plus court chemin et le contraint de rester longtemps localisé dans chacune des cellules qu'il envahit. La formation des arbuscules retarde plus sûrement encore la progression de l'endophyte, puisque les rameaux grêles qui les constituent sont incapables de franchir les cloisons cellulósiques et de passer dans les cellules voisines de celles qu'ils occupent. Ralentis par ce mécanisme, les progrès de l'infestation se règlent, en quelque sorte, sur le développement de la plante et ne peuvent s'étendre au delà de certaines limites ; la protection de la majeure partie des tissus de l'hôte se trouve de la sorte assurée.

Or les pelotons et les arbuscules, formations constantes dans les mycorhizes, ne se rencontrent qu'exceptionnellement chez les Champignons qui mènent une existence autonome. Il est vraisemblable qu'il s'agit là de modes de végétation anormaux, résultant d'une adaptation étroite à la vie parasitaire, liés par conséquent à la nature physico-chimique

de la sève intracellulaire des plantes, autrement dit à une propriété humorale. L'immunité dans la symbiose serait dès lors comparable à l'immunité acquise des animaux vaccinés ; on sait, en effet, que, dans le mécanisme de cette immunité, les propriétés défensives des humeurs entrent en ligne de compte et acquièrent une importance prépondérante. En fait, les microbes, dans les humeurs des animaux vaccinés contre eux, adoptent des modes de végétation anormaux, qui ont pour effet d'entraver leur développement. Telle est, par exemple, l'agglutination des Bactéries, qui se présente dans l'immunité acquise comme un épisode à peu près constant, et que l'on peut rapprocher du pelotonnement intracellulaire des Champignons symbiotiques.

31. **Infections mortelles.** — Il est d'ailleurs des cas où les plantes, au lieu de détruire leurs hôtes par phagocytose, ou de les tolérer en mettant en œuvre des réactions d'immunité humorale, ne leur opposent aucune résistance et, se laissant envahir en totalité, succombent à une maladie infectieuse rapidement mortelle. C'est ce qui arrive notamment lorsqu'on inocule des semis de *Phalænopsis* avec le *Rhizoctonia repens* [5] : les embryons de *Phalænopsis* exposés à l'action de ce Champignon sont envahis tardivement par le mycélium, qui forme des pelotons dans les premières cellules qu'il pénètre. Mais il ne se produit qu'une phagocytose insignifiante et, au bout d'un certain temps, les pelotons eux-mêmes cessent de se former ; dès lors, le Champignon progresse en droite ligne et en tous sens à travers les cellules et envahit le corps entier de l'embryon, qui ne tarde pas à succomber à cette infection généralisée. De même, les embryons de Cattléyées qui ont enrayé par phagocytose une première invasion du *Rhizoctonia mucoroides* se laissent secondairement envahir en totalité par ce même Champignon, qui traverse les cellules en droite ligne, sans rencontrer aucune résistance. Le fait que, dans ces infections mortelles, les pelotons ne se forment pas montre bien que le pelotonnement du mycélium, lorsqu'il se produit, est lié à une réaction défensive des humeurs de la plante.

J'ai observé un cas analogue chez un *Solanum nigrum* qui s'était développé accidentellement dans une culture de *Solanum tuberosum* en sol infesté. Les racines de cette plante étaient assez largement envahies par un Champignon, qui pénétrait indistinctement tous les éléments de la racine, sans en excepter les vaisseaux libériens et ligneux. Le mycélium cheminaient en ligne droite à travers les cellules, sans y former ni pelotons, ni arbuscules, ni sporangioles. Ici encore, l'absence de réaction phagocytaire et d'immunité humorale permettait au Champignon de franchir les limites qui, dans la symbiose, sont imposées aux endophytes. Au moment où la plante a été prélevée, elle n'accusait encore aucun symptôme de souffrance, mais il est vraisemblable qu'elle n'eût pas survécu longtemps à l'oblitération de ses vaisseaux (1).

32. Fonction fungicide des tubercules. — La réalité de l'immunité humorale, que des faits de cet ordre laissaient prévoir, a pu être mise directement en évidence par l'expérience suivante, due à Noël BERNARD [8]: on place au fond d'un tube contenant une certaine quantité de gélose nutritive un fragment découpé aseptiquement dans le tubercule d'un *Orchis* ou d'un *Loroglossum*. Le fragment de tubercule ainsi disposé laisse diffuser dans la gélose les produits solubles qu'il renferme. Le *Rhizoctonia repens*, endophyte des Ophrydées, est semé sur la gélose à quelque distance; il commence à s'accroître comme à l'ordinaire, mais bientôt sa croissance s'arrête et, avant qu'ils aient atteint le fragment de tubercule, les filaments du Champignon dépérissent à mesure que les substances diffusées se répandent dans la culture; en quelques semaines, le Champignon est définitivement tué. Cette action nocive des tubercules d'Ophrydées est spécifique: elle s'exerce bien sur le commensal des Ophrydées, mais non sur le *Rhizoctonia mucoroides*, commensal des

(1) Ce cas, en s'opposant à ceux où le *Solanum nigrum* met en œuvre une phagocytose énergique, achève de faire ressortir l'instabilité de l'association entre cette plante annuelle et les endophytes. L'association instable des Cattléyées et du *Rhizoctonia mucoroides* offre, comme on vient de le voir, de semblables alternatives entre une phagocytose efficace et l'absence totale de réactions d'immunité.

Phalænopsis et des *Vanda* ; d'autre part, elle disparaît chez les tubercules chauffés à 55°. Il y a donc bien là un phénomène de tout point comparable à la formation des anticorps qui se développent chez les animaux immunisés et qui sont de même, comme l'on sait, spécifiques et peu résistants à la chaleur. L'existence d'un anticorps fungicide localisé dans les tubercules explique, par ailleurs, que ces organes restent constamment indemnes de Champignons.

Chez les plantes à tubercules étudiées dans ce travail, la difficulté de la culture des endophytes a été un obstacle à la réalisation d'expériences du même type. Mais, si l'on remarque que, chez la Pomme de terre et l'Orobe aussi bien que chez les Orchidées, la tubérisation est liée à la symbiose, on est conduit à supposer qu'ici encore les tubercules représentent des organes de défense, capables d'assurer la protection des plantes contre leurs envahisseurs.

33. Réactions de défense dans la symbiose lichénique. —

Les expériences de Noël BERNARD sur les Orchidées amènent à considérer la symbiose comme le cas limite vers lequel tend l'association de deux organismes antagonistes lorsque leurs forces s'équilibrent. Les faits qui viennent d'être décrits chez les *Solanum*, les *Orobis* et les *Mercurialis* conduisent à la même conception, pour ces plantes appartenant à des familles très diverses de Dicotylédones. Enfin des observations récentes de M. F. MOREAU [35] montrent que cette manière de voir est applicable au groupe des Lichens, chez lequel pourtant la symbiose offre, *a priori*, toutes les apparences de la plus parfaite harmonie.

Chez le *Ricasolia herbacea*, Lichen de la famille des Stictacées, quand des Cyanophycées viennent au contact de la face inférieure du Lichen, il arrive que les cellules du Champignon se développent autour d'elles, formant avec les Algues des tubercules, connus sous le nom de céphalodies, qui font saillie à la face inférieure du thalle. Dans d'autres cas, les Cyanophycées sont entraînées par les hyphes dans la profondeur du Lichen, et la céphalodie qui se développe, au lieu de faire saillie à la surface, est profondément immergée

dans le thalle. Qu'il s'agisse de céphalodies externes ou internes, il est fréquent que l'Algue ne soit pas tolérée par le Champignon ; une lutte s'engage entre les deux composants du complexe, et elle se termine souvent par la dégénérescence et la mort de l'Algue. « La symbiose limitée, éphémère et facultative que l'on observe dans les céphalodies, s'oppose, selon les termes mêmes de M. F. MOREAU, à la symbiose étendue, durable et apparemment nécessaire offerte par le thalle ordinaire. » Elle est à mettre en parallèle avec l'association instable dont la Pomme de terre, l'*Orobus coccineus*, le *Mercurialis annua* nous offrent des exemples, et qui, de même, s'opposent à la symbiose durable observée chez l'*Orobus tuberosus*, chez le *Mercurialis perennis* et, dans certains cas, chez la Pomme de terre. D'ailleurs, d'après le même auteur, dans la symbiose lichénique normale, on trouve, limités à des plages restreintes, les phénomènes de mort et de dégénérescence des Algues offerts par les céphalodies immergées, de même que, chez les plantes à mycorhizes, on observe, dans les cas de symbiose les mieux caractérisés, une destruction partielle du Champignon par phagocytose.

34. **Généralité des lois de l'immunité.** — En résumé, les Champignons symbiotiques rencontrent, lorsqu'ils tentent d'envahir leurs hôtes, des obstacles de trois sortes. Ils sont en premier lieu arrêtés par la résistance mécanique de la paroi cellulaire des organes qu'ils attaquent. Ce premier obstacle franchi, ils sont détruits plus ou moins précocement par phagocytose. Enfin, dans les cas où l'adaptation réciproque des deux organismes à la vie commune permet l'établissement de la symbiose, leurs progrès sont limités par l'intervention de propriétés humorales agglutinatives et fungicides.

Ce sont essentiellement les mêmes moyens de défense qui sont mis en œuvre dans la lutte des animaux contre les micro-organismes. Le tégument externe et la muqueuse intestinale représentent une barrière infranchissable pour la plupart des microbes qui pullulent à la surface du corps ou dans le tube digestif des animaux. Si, en dépit de cet obstacle mécanique, des microbes parviennent à s'introduire dans l'écono-

mie, ils sont, le plus souvent, détruits par une réaction phagocytaire précoce et rapide. S'il s'agit de microbes mieux adaptés, ou, en d'autres termes, plus virulents, la guérison par phagocytose peut être précédée d'une pullulation plus ou moins importante des germes infectieux dans l'organisme. Si la virulence, plus grande encore, l'emporte sur la résistance, la phagocytose est impuissante à enrayer la marche de l'infection, et l'animal succombe à l'invasion généralisée de ses tissus.

Mais si, au moyen de la vaccination, on accoutume l'animal à tolérer des microbes de plus en plus virulents, on voit apparaître des processus nouveaux d'immunité, plus efficaces que la phagocytose. Les humeurs acquièrent en pareil cas des propriétés défensives, qui se répartissent en deux grands groupes : propriétés agglutinatives ou précipitantes d'une part et, d'autre part, propriétés bactéricides. Grâce à la mise en œuvre de ces moyens de défense, la marche de l'infection peut être enrayée efficacement.

Le parallélisme est donc frappant et se poursuit jusque dans les détails, entre l'immunité des plantes adaptées à la symbiose et l'immunité des animaux acquise par vaccination. Il n'y a rien là qui puisse surprendre si l'on observe, avec Noël BERNARD [8], que l'immunité qui s'exerce dans la symbiose est la forme la plus parfaite d'immunité acquise que l'on puisse imaginer, puisque l'adaptation de la plante à son commensal a été réalisée par des périodes géologiques de vie commune.

L'étude de la symbiose montre que les lois de la pathologie générale, telles qu'elles ont été déduites de longues recherches sur les infections animales, permettent de coordonner, chez les plantes aussi bien que chez les animaux, les phénomènes d'adaptation des microorganismes aux hôtes capables de les héberger. Elle permet, en les étendant au règne végétal, de donner toute leur ampleur aux théories de l'immunité.

CHAPITRE V

MÉCANISME PHYSIQUE DE LA TUBÉRISATION

La relation entre la symbiose et la tubérisation étant établie pour des plantes appartenant aux groupes les plus variés, il reste à expliquer par quel mécanisme les Champignons symbiotiques peuvent modifier le mode de croissance des tissus de leurs hôtes au point de provoquer la formation de tubercules.

35. **Action à distance des Champignons.** — Il convient de remarquer d'abord que l'action des Champignons s'exerce à distance des cellules qu'ils envahissent. Les endophytes, comme on l'a vu, ne pénètrent jamais que des cellules accrues et différenciées ; on ne saurait s'attendre à voir des tubercules se former aux dépens de telles cellules, incapables de multiplication et de croissance. La tubérisation ne peut évidemment se produire qu'au contact des zones méristématiques, où les cellules, restées embryonnaires, gardent le pouvoir de se diviser. Or les méristèmes ne sont jamais atteints par les Champignons symbiotiques et sont souvent situés à de grandes distances des régions infestées. Il faut donc admettre que les endophytes localisés en certaines régions des plantes interviennent en provoquant une modification générale de l'équilibre physico-chimique de la sève, capable de retentir sur les cellules méristématiques et d'entraîner des anomalies de croissance. Des exemples de semblables actions à distance sont d'ailleurs communs dans les infections animales : il est fréquent que des Bactéries, localisées dans une région limitée de l'organisme d'un animal, sécrètent des toxines qui diffusent dans les humeurs et agissent électivement sur des

tissus souvent fort éloignés de la zone envahie, sur les centres nerveux par exemple.

36. Mode de formation des tubercules. — Ceci posé, quelles sont essentiellement les anomalies de croissance des méristèmes qui ont pour conséquence la formation de tubercules ?

Lorsque le fonctionnement d'un méristème aboutit au développement d'un organe de structure normale, d'une tige feuillée, par exemple, les cellules qui proviennent de la division des initiales s'accroissent en longueur sans s'épaissir notablement. Il se constitue ainsi, immédiatement en arrière du bourgeon terminal, une zone d'élongation, où la croissance se fait dans le sens longitudinal. Ce mode de croissance des cellules a pour conséquence la production d'une tige grêle, à entre-nœuds allongés. Il n'en est pas de même lorsqu'un tubercule se forme aux dépens du bourgeon. En pareil cas, les cellules issues des cloisonnements du méristème restent relativement courtes, mais s'accroissent notablement dans le sens transversal, si bien que, tout en augmentant leur volume, elles restent isodiamétriques, comme les cellules embryonnaires d'où elles dérivent. L'ensemble de ces cellules accrues en épaisseur constitue non un organe grêle, comme dans le cas précédent, mais un tubercule épais dont les entre-nœuds, s'il s'agit d'une tige, restent courts. La forme de la plante résulte donc, en dernière analyse, du mode de croissance de ses cellules ; la tubérisation se produit lorsque la croissance par épaississement se substitue à la croissance normale par élongation.

Le problème se réduit, par conséquent, à rechercher les modifications physico-chimiques du suc cellulaire capables d'entraîner la croissance transversale des cellules, et à examiner si des modifications de cet ordre peuvent être engendrées par les Champignons symbiotiques.

37. Croissance transversale chez les Thallophytes. — Le mécanisme de la croissance par épaississement se présente avec le maximum de simplicité et, en quelque sorte, sous sa forme élémentaire chez les organismes unicellulaires, ou

tout au moins chez les Thallophytes inférieurs, formés de cellules peu différenciées. C'est le cas des Algues filamenteuses telles que les *Stigeoclonium*, généralement constituées par des files de cellules allongées, mais qui peuvent, dans certaines circonstances, former des masses palmelloïdes épaissies, à cellules isodiamétriques. M. LIVINGSTON [20] a étudié le déterminisme de la croissance palmelloïde de ces Algues ; cultivant des *Stigeoclonium* dans des solutions de même composition chimique, mais de concentration variable, il a constaté que le passage de la forme filamenteuse à la forme massive pouvait être obtenu par un simple accroissement de la concentration. Le phénomène est d'ailleurs réversible, et l'on peut inversement passer de la forme palmelloïde à la forme filamenteuse, en diminuant la concentration. Dans une autre série d'expériences, M. LIVINGSTON [21, 22] a fait varier, en outre, la composition chimique du liquide nutritif ; il a observé que la concentration critique pour laquelle le passage d'une forme à l'autre est réalisé différerait suivant la nature chimique des substances dissoutes.

J'ai observé une action de même sens de la concentration sur le mode de croissance des cellules chez une Bactérie (*Bacillus Diphteriæ*). Le Bacille diphtérique, cultivé sur les milieux nutritifs usuels, se développe sous forme de bâtonnets grêles. Immergé dans les mêmes milieux additionnés d'une certaine proportion de glucose, il donne naissance à des cellules fortement renflées en fuseau, ayant l'aspect de Radis microscopiques.

38. Influence de la concentration. — Chez les plantes supérieures, de très nombreuses expériences montrent que la croissance transversale des cellules et la tubérisation qui en découle peuvent dépendre de même de la concentration des substances dissoutes dans le suc cellulaire. M. E. LAURENT [19] a montré que l'on peut obtenir des tubercules sur des tiges aériennes de Pomme de terre coupées et plongées dans une solution de saccharose suffisamment concentrée. Noël BERNARD [2, 3] a repris ces expériences et en a précisé l'interprétation : des tiges de Pommes de terre coupées sont

plongées dans des solutions de glucose, de saccharose, de glycérine ou de chlorure de potassium diversement concentrées. Les bourgeons axillaires de ces boutures se développent soit en tubercules, soit en rameaux feuillés, suivant la concentration de la solution. Au-dessus d'une concentration moléculaire, ou plutôt d'une pression osmotique critique, toujours la même, quelle que soit la substance dissoute, il se forme des tubercules, tandis que, pour les concentrations plus faibles, il se développe régulièrement des rameaux. Des solutions très différentes au point de vue chimique donnent donc des résultats comparables, pourvu qu'elles soient isotoniques. Cette expérience montre que la tubérisation dépend moins de la nature chimique des substances dissoutes et de leur valeur nutritive que des propriétés physiques que les solutions tiennent de leur concentration moléculaire.

Dans une série d'expériences fort suggestives, portant sur des espèces variées, M. MOLLIARD [29, 33] a montré que l'on pouvait provoquer la tubérisation en l'absence de tout microorganisme, en élevant, par un artifice convenable, la teneur en sucres de la sève des plantes. Des graines de Radis, semées aseptiquement sur des solutions salines glucosées, développent des racines grêles. Semées sur les mêmes solutions additionnées d'une certaine proportion de glucose ou de saccharose, elles donnent des plantules à racine principale tubérisée. Des expériences comparables, à quelques variantes près, ont été réalisées pour des plantes diverses, telles que l'Oignon, la Carotte, le Dahlia (1).

Par contre, à partir de graines de Pomme de terre semées dans les mêmes conditions, le même auteur [31] a constamment obtenu des plantules dépourvues de tubercules, que le milieu nutritif minéral fût ou non additionné de 5 à 10

(1) La Carotte et le Dahlia, à la différence du Radis et de l'Oignon, se sont montrés incapables d'utiliser les sucres de la solution nutritive. C'est en faisant circuler dans les tubes de culture de l'air chargé de gaz carbonique, de manière à assurer une assimilation chlorophyllienne intense, que M. MOLLIARD a pu obtenir la tubérisation aseptique de ces deux espèces. Chez l'Oignon, dans des conditions d'éclairement convenables, la tubérisation aseptique a pu être obtenue sur des milieux très dilués (eau de source stérilisée). Les substances dissoutes nécessaires à la tubérisation sont dans ces cas fournies par la photosynthèse.

p. 100 de glucose. Attribuant dans ce cas l'absence de tubérisation à une utilisation insuffisante des sucres de la solution, il a augmenté l'absorption du glucose par les racines en supprimant les échanges gazeux des tubes de culture avec l'air extérieur. Dans des tubes où, à cet effet, le bouchon d'ouate avait été remplacé par un bouchon de caoutchouc, les graines ont donné des plantules formées d'une tige épaisse et courte, à entre-nœuds raccourcis, à feuilles réduites à des écailles atrophiées, présentant en un mot les traits essentiels de la tubérisation ; les cellules parenchymateuses de ces plantules anormales renfermaient d'ailleurs de nombreux grains d'amidon, qui font défaut dans les tiges ordinaires de Pomme de terre.

39. Tubérisation aseptique des Orchidées. — D'après ces expériences, le passage de la croissance par élongation à la croissance par épaississement paraît dépendre, dans la plupart des cas, d'une élévation de la pression osmotique du liquide qui baigne les cellules. Chez les Orchidées même, où le rôle du Champignon dans la germination des graines et la tubérisation des embryons a été vérifié de la façon la plus décisive, Noël BERNARD a montré, par une série de belles expériences, que l'action du parasite pouvait se ramener à un mécanisme physico-chimique de même type. Les recherches de cet ordre ont porté sur le *Bletilla hyacinthina* et sur les Cattlées [5]. La première de ces Orchidées représente l'un des types les plus primitifs de la famille ; on sait qu'elle peut germer avec ou sans le concours de Champignons. Semées sans Champignons sur des milieux nutritifs dilués, où l'abaissement du point de congélation Δ est de $0^{\circ},01$, elles se développent lentement en plantules grêles, à entre-nœuds allongés. Associées, sur les mêmes milieux, à des Champignons d'activité croissante, elles ont un développement plus rapide et produisent un tubercule embryonnaire d'autant plus précoce et d'autant plus volumineux que le mycélium employé est plus virulent. Si, d'autre part, on augmente la concentration, sans faire intervenir les Champignons, on constate que, pour des concentrations encore relativement

faibles ($\Delta = 0^{\circ},02$), la croissance devient plus rapide, mais se fait encore par élongation, tandis que, pour des concentrations fortes ($\Delta = 0^{\circ},04$ et mieux encore $\Delta = 0^{\circ},06$), le mode de croissance change : la plupart des plantules présentent un tubercule embryonnaire et des entre-nœuds courts. Si l'on compare les plantules obtenues sans Champignons à des concentrations de plus en plus élevées, à celles qui se sont développées à une même concentration avec des Champignons de plus en plus actifs, on constate un parallélisme étroit entre les deux séries de cultures. *L'accroissement de concentration des solutions*, conclut Noël BERNARD, *pour les plantules élevées sans Champignons, entraîne les mêmes résultats que l'accroissement d'activité des Champignons pour les plantules soumises à la symbiose.*

Les expériences sur les Cattlées ont donné des résultats de même ordre. Semées sans Champignons sur des milieux dilués, les graines de Cattlées ne germent pas. Sur des milieux plus concentrés, elles sont au contraire capables de germination autonome et se développent en donnant des plantules tubérisées conformes au type habituel. Adaptées enfin à vivre sans Champignons sur des milieux très fortement concentrés, elles développent des tubercules embryonnaires volumineux et présentant des anomalies comparables à celles que Noël BERNARD a obtenues dans certains cas d'associations anormales.

40. Mécanisme de l'action des Champignons. — Ces résultats amènent logiquement à conclure que les Champignons agissent sur la croissance en produisant dans les cellules de leurs hôtes, grâce aux diastases qu'ils sécrètent, des dislocations moléculaires qui ont pour effet d'élever la concentration de la sève. Cette augmentation de la concentration ne se limitant évidemment pas aux régions envahies par les parasites, on conçoit que ses effets puissent se faire sentir à distance.

Noël BERNARD a vérifié cette vue théorique en constatant que les Rhizoctones d'Orchidées sont capables d'augmenter la concentration des solutions où on les cultive. Des tubes

de culture contenant une décoction de salep additionnée de saccharose sont stérilisés, puis placés à l'étuve à 27°, les uns sans Champignons, les autres après ensemencement de divers Rhizoctones. Après vingt-cinq jours, tandis que l'abaissement du point de congélation était de 0°,38 dans les solutions stériles, il atteignait 0°,64 dans les solutionsensemencées de *Rhizoctonia mucoroides*. La présence des Rhizoctones entraînant une augmentation très notable de concentration de la solution employée (1), il est naturel de penser que ces Champignons agissent de même dans les cellules qu'ils envahissent. Cette action *in vivo* est d'ailleurs prouvée directement par le fait observé par MAGNUS [23], par Noël BERNARD et par moi-même, de la disparition de l'amidon dans les cellules infestées ; la dislocation d'un composé colloïdal tel que l'amidon est parmi celles qui peuvent au mieux entraîner une augmentation de la pression osmotique du suc cellulaire.

Ainsi les Champignons symbiotiques engendrent précisément, dans les milieux où ils végètent, les modifications physico-chimiques par lesquelles on a pu provoquer artificiellement la croissance par épaississement. Le mécanisme de l'action de la symbiose sur la tubérisation se trouve de la sorte éclairé. Au reste, le cas des plantes à tubercules n'est pas le seul où les actions complexes exercées dans la nature par des parasites spécifiques ont pu être ramenées à des mécanismes physico-chimiques plus simples.

41. Mécanisme des actions cécidogènes. — En semant aseptiquement des graines de Pois sur des filtrats de culture de *Rhizobium radicicola* Beyer., M. MOLLIARD [30] a obtenu des plantules à racines courtes et fortement épaissies, présentant des phénomènes d'hyperplasie et d'hypertrophie comparables à ceux qui caractérisent les nodosités radicales produites dans la nature par le *Rhizobium* lui-même. Le même auteur [32], en inoculant dans le pistil du *Papaver Rhæas* un extrait aqueux de larves de l'*Aulax Papaveris*, a obtenu

(1) Cette augmentation ne tient pas à l'évaporation, qui est sensiblement la même pour tous les tubes, mais sans doute à une inversion partielle du saccharose.

une hypertrophie des lames placentaires semblable à celle que provoque la piqûre de ce parasite. Ces deux exemples montrent que l'hypertrophie réalisée dans certaines cécidies peut être obtenue artificiellement en dehors de l'intervention des parasites.

Mais il s'agit là encore d'actions spécifiques, provoquées par des substances chimiques complexes élaborées par les parasites eux-mêmes. Dans d'autres cas, des hyperplasies, qui dans les conditions naturelles relèvent d'actions parasitaires, ont pu être réalisées sous l'action de facteurs physiques simples, sans qu'aucune substance spécifique soit mise en jeu. Étudiant le mécanisme d'action du *Bacterium tumefaciens*, qui provoque chez diverses plantes des tumeurs comparables par leur structure et leur mode d'extension au cancer des animaux, M. Erwin SMITH [41] a inoculé dans des tiges de Ricin des substances chimiques définies, trouvées dans les cultures de cette Bactérie et résultant de son métabolisme. Il a obtenu, par ce moyen, la production d'excroissances présentant quelques-uns des traits de structure qui caractérisent les galles dues au *Bacterium tumefaciens* même. Les substances capables de produire de tels effets sont très variées, puisqu'elles comprennent des sels ammoniacaux, des amines, des aldéhydes, des acides tels que l'acide acétique et l'acide formique. Ce n'est donc pas par leur nature chimique qu'elles agissent, mais bien par un mécanisme physique qui doit être le même dans tous les cas, et qui, selon M. SMITH, consiste vraisemblablement en une modification de la pression osmotique.

Les faits rapportés dans ce chapitre montrent que les actions parasitaires spécifiques, qui, dans la nature, aboutissent à la production d'anomalies de croissance et de structure, peuvent souvent être ramenées à des mécanismes physico-chimiques d'ordre banal, parmi lesquels les variations de la concentration moléculaire jouent un rôle fondamental. Ils sont à rapprocher de la parthénogenèse expérimentale, où des facteurs physiques de même nature se substituent efficacement à l'action spécifique des spermatozoïdes.

Les expériences de tubérisation aseptique sous l'influence de solution concentrées, en rendant compte du mode d'action des parasites, complètent heureusement la théorie qui attribue à la symbiose un rôle prépondérant dans la production normale des tubercules. Mais elles n'infirment pas plus cette théorie que les expériences de parthénogenèse ne diminuent l'importance de la fécondation comme facteur de la segmentation des œufs. En transportant dans le domaine de la chimie physique quelques-uns des problèmes complexes et obscurs de la biologie, elles permettent de pénétrer plus profondément le mystère des phénomènes vitaux.

CHAPITRE VI

ESSAIS DE CULTURE DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES

Il serait d'un grand intérêt, pour le sujet qui nous occupe, d'isoler en culture pure les Champignons de mycorhizes et d'appliquer dans toute leur rigueur, à l'étude expérimentale de la symbiose, les techniques pasteuriennes, ainsi que Noël BERNARD a pu le faire dans le cas des Orchidées. Malheureusement la culture des endophytes se heurte à des difficultés considérables. Après avoir rappelé brièvement quelques-unes des tentatives des auteurs qui ont abordé ce problème et insisté sur les résultats positifs obtenus par Noël BERNARD pour les Champignons des Orchidées et, plus récemment, par M. RAYNER pour celui des *Calluna*, j'exposerai dans ce chapitre les essais de culture de l'endophyte des *Solanum* que j'ai été amené à tenter.

42. **Premières tentatives.** — La méthode primitivement employée dans les recherches de cet ordre consistait à abandonner en milieu humide, ou sur des substratums nutritifs variés, des fragments ou des coupes de racines infestées, préalablement lavées à l'eau stérile. Les auteurs qui, à l'exemple de WAHRLICH [42], ont eu recours à cette technique ont obtenu, avec une certaine constance, des *Fusarium* représentant les formes conidiennes de diverses espèces de *Nectria* ; ils ont généralement conclu de ces résultats que les Champignons de mycorhizes étaient des *Fusarium*.

M. GALLAUD [17] a fait une critique serrée de ces expériences. Il a montré, d'une part, que les techniques employées étaient défectueuses et n'assuraient pas l'asepsie de la surface extérieure des racines ; il a, d'autre part, obtenu des *Fusarium*

à partir de racines ou d'organes divers non infestés, avec la même constance que lorsqu'il s'agissait de mycorhizes. Il a enfin tenté d'inoculer ces Champignons à des plantules aseptiques d'espèces variées et a constaté qu'ils ne pénétraient jamais les racines des plantules vigoureuses ; seules les plantules moribondes étaient envahies par le mycélium, qui pénétrait indistinctement tous les tissus, sans y donner aucune des formes caractéristiques des endophytes. Il conclut de ces résultats négatifs que les *Fusarium* ne sont pas les formes libres des endophytes.

Le même auteur a tenté l'emploi de méthodes d'isolement plus parfaites ; ayant semé en cellules de Van Tieghem, sur des milieux nutritifs variés, des coupes fines de racines infestées, il a constaté, par des examens microscopiques répétés, que le mycélium interne n'y subissait aucun changement ; les moisissures qui se développaient dans certains cas paraissent toujours de la surface et n'étaient que des impuretés banales. Dans une autre série d'expériences, il a tenté l'inoculation à des plantules aseptiques des divers Champignons obtenus par les méthodes d'extraction directe. Il a pu ainsi obtenir des infestations artificielles de thalles d'Hépatiques ou de voiles d'Orchidées, mais, dans tous ces cas, le mycélium pénétrait les cellules en droite ligne, sans former les pelotons, les vésicules et les arbuscules caractéristiques des Champignons de mycorhizes. En l'absence du critérium de l'inoculation, qui autorise seul à conclure à la spécificité des germes isolés, M. GALLAUD admet que les divers Champignons qu'il a expérimentés n'ont rien de commun avec les endophytes.

43. **Les endophytes des Orchidées.** — Noël BERNARD a résolu le problème en réalisant la culture pure des Champignons des Orchidées. Ayant semé sur de la gélose au saleg des plantules provenant de semis faits en serre, ou des fragments découpés dans des racines contaminées, il obtint le développement de Champignons variés et constata que l'un d'eux, introduit dans des semis aseptiques de graines d'Orchidées, les faisait germer régulièrement [4]. Les plantules provenant de la germination de ces graines présentaient

d'ailleurs le mode d'infestation caractéristique. La preuve était ainsi faite de l'identité de ce mycélium avec l'endophyte. Par la suite, Noël BERNARD perfectionna ses méthodes d'isolement [5] ; il réussit à extraire sous le microscope, au moyen d'une fine aiguille de platine stérilisée, les pelotons intracellulaires qui infestent les racines et les embryons d'Orchidées, et à les transporter aseptiquement sur les milieux de culture appropriés. Dans ces conditions, les pelotons se développent et donnent d'emblée une culture pure de l'endophyte.

Les Champignons ainsi obtenus, caractérisés par leurs hyphes cloisonnées, rarement pelotonnées dans les cultures ; et par le développement tardif de filaments moniliformes ramifiés, à articles courts et renflés, ressemblent étroitement au *Rhizoctonia Solani* Khün (= *Rhizoctonia violacea* Tulasne). Cette ressemblance a permis à Noël BERNARD de les rapporter au genre *Rhizoctonia*. Il en a décrit trois espèces : l'une, le *Rhizoctonia repens*, très répandue, est commune à un grand nombre d'Orchidées ; les deux autres, qui se distinguent essentiellement de la première par la production de sclérotés, sont spéciales à un petit nombre de genres : ce sont le *Rhizoctonia mucoroides*, commensal des *Phalaenopsis* et des *Vanda*, et le *Rhizoctonia lanuginosa*, commensal des *Odontoglossum*.

Ces résultats ont été pleinement confirmés par les recherches de M. BURGEFF [11, 12], qui a isolé les mêmes Champignons d'un grand nombre d'Orchidées tropicales et indigènes. Mais, à la différence de Noël BERNARD, M. BURGEFF ne se préoccupe pas de leurs affinités ; il les décrit sous le nom générique d'*Orcheomyces* et adopte, comme nom spécifique de chacun des types isolés, le nom d'espèce de l'Orchidée qui l'hébergeait.

Tout récemment, MM. COSTANTIN et DUFOUR [14] ont apporté une confirmation nouvelle des travaux de Noël BERNARD en isolant le Champignon encore inconnu d'une Orchidée acclimatée dans nos contrées, le *Goodyera repens*. En semant les pelotons extraits des racines de cette plante sur des milieux nutritifs variés, ces auteurs ont obtenu une grande proportion de cultures pures d'un *Rhizoctonia* appartenant à une

espèce nouvelle, qu'ils décrivent sous le nom de *Rhizoctonia Goodyeræ repentis*.

La découverte de Noël BERNARD a été féconde en résultats ; elle a fourni le moyen d'appliquer à l'étude de la symbiose chez les Orchidées les méthodes les plus précises et de varier largement les conditions expérimentales. En révélant chez les Rhizoctones des variations d'activité comparables aux variations de virulence des Bactéries, elle a permis de répéter, dans le cas des Orchidées, les expériences classiques par lesquelles PASTEUR a établi les lois de l'infection bactérienne chez les animaux.

44. L'endophyte du « *Calluna vulgaris* ». — Les endophytes d'Orchidées sont restés les seuls que l'on sût obtenir en cultures pures, jusqu'au jour où M. RAYNER [38, 39] réussit à cultiver le Champignon symbiotique du *Calluna vulgaris*. On sait que la symbiose n'est pas moins constante dans le groupe des Éricacées que dans celui des Orchidées. M. RAYNER essaya d'abord d'isoler le Champignon des Bruyères en semant sur des milieux nutritifs convenables des fragments de racines infestées ; il ne réussit par ce moyen qu'à cultiver les moisissures banales que ces racines portent à leur surface. Mais, par une circonstance heureuse, le commensal du *Calluna* ne reste pas strictement localisé dans les racines ; il envahit les tiges et pénètre jusque dans les carpelles, si bien qu'on le retrouve à l'état de pureté dans la cavité des fruits mûrs et dans le tégument des graines. On peut de là le transporter aseptiquement sur des milieux gélosés additionnés d'extrait de *Calluna* et obtenir son développement en culture pure. Le Champignon ainsi isolé est un *Phoma* ; M. RAYNER a vérifié qu'il s'agissait bien de l'endophyte spécifique en l'inoculant à des semis aseptiques de graines de *Calluna vulgaris* et en reproduisant ainsi l'infestation caractéristique.

45. L'endophyte des « *Solanum* ». — Si la question de l'isolement et de l'identification des Champignons de mycorhizes était résolue pour les Orchidées et les Bruyères, elle restait entière pour les autres groupes de végétaux, qui, en

nombre immense, sont soumis à la symbiose. Aussi, lorsque Noël BERNARD, à la suite de ses recherches sur les Orchidées, reprenait l'étude de la symbiose chez les *Solanum*, son premier souci fut-il de tenter l'isolement de l'endophyte de ces plantes [9].

Les semis, sur gélose au salep ou au jus de Pomme de terre, de fragments infestés de racines de Douce-Amère, lui ont fourni, à plusieurs reprises, parmi des moisissures sans intérêt, une Mucorinée qui a retenu son attention par ses caractères morphologiques et par l'action favorisante qu'elle exerçait sur la germination des graines de *Solanum Dulcamara*. Le Champignon dont il s'agit est constitué par des filaments rampants, vésiculeux, formant un voile épais ; plus tard, il développe des sporanges, qui parfois avortent, formant alors de véritables vésicules qui germent en donnant directement du mycélium. Enfin, les filaments aériens qui retombent sur le verre humide ou la gélose donnent en abondance des rameaux ramifiés, grêles, rappelant les arbuscules.

L'étude de ce Champignon a été interrompue avant que l'auteur en ait pu tenter l'inoculation à des plantules de *Solanum*. Aussi, en l'absence du critérium fourni par l'infestation expérimentale, Noël BERNARD s'abstient-il de conclure à son identité avec l'endophyte.

46. Le « *Mucor Solani* ». — J'ai tenté d'isoler, nouveau cette Mucorinée à partir de racines infestées de *Solanum*. Malheureusement la technique élégante employée par Noël BERNARD pour l'isolement des Rhizoctones s'est montrée inapplicable ici. Si l'on peut, au prix d'une certaine dextérité, extraire sous le microscope les pelotons bien distincts qui occupent les cellules des volumineuses racines d'Orchidées, il n'en est pas de même des arbuscules, qui forment dans les plus fines radicelles de la Douce-Amère et de la Pomme de terre un chevelu inextricable. Il est possible, néanmoins, d'éliminer les saprophytes superficiels au moyen d'un brossage mécanique des racines dans du sable humide stérilisé. Des coupes, pratiquées avec des instruments flambés dans des racines infestées ainsi traitées, ont été transportées sur des milieux

nutritifs gélosés (1). Elles y sont restées indéfiniment stériles, et le mycélium spécifique qu'elles renfermaient ne s'est pas plus développé que les moisissures banales (2).

Ces essais infructueux suggéraient que les arbuscules, ainsi que l'avait prévu Noël BERNARD, représentaient des formes beaucoup plus étroitement adaptées à la vie parasitaire que les pelotons des Orchidées, et qu'ils étaient sans doute incapables de se développer à l'état autonome. Mieux valait donc, malgré les risques de contamination par la flore saprophyte superficielle, tenter de bouturer le mycélium extérieur pris au moment de sa pénétration dans les racines.

A cet effet, des racines infestées de plantules de *Solanum Dulcarama* ont été lavées au pinceau dans plusieurs bains successifs d'acide tartrique à 0,5 p. 100, puis découpées en menus fragments qui ont été transportés sur des tranches de Pommes de terre stérilisées, enfermées dans des tubes de Roux. Les fragments semés ne tardent pas être envahis par une multitude de Bactéries et de moisissures. Au cours de très nombreux essais, j'ai isolé, à trois reprises, parmi ces impuretés banales, un *Mucor* présentant le caractère du Champignon décrit par Noël BERNARD. Transporté sur des milieux gélosés, ce *Mucor* donne d'abord des cultures incluses dans la gélose (3), puis développe des filaments aériens, dressés, portant des sporanges. Les gros troncs mycéliens inclus dans le substratum donnent naissance à des arbuscules et à des vésicules semblables à ceux que l'on observe dans les mycorhizes. Les arbuscules, portés latéralement par les

(1) Le milieu employé pour cet essai était une gélose additionnée d'un extrait obtenu par macération dans l'eau à 80° de fragments de tubercules de Pomme de terre. Avant la répartition dans les tubes de gélose, l'extrait était stérilisé par filtration sur porcelaine.

(2) J'ai pu m'assurer de l'inertie complète des endophytes intracellulaires en semant en cellule de Van Tieghem de petits groupes de cellules infestées découpées aseptiquement, sous le microscope, dans des thalles de *Fegatella conica*. Les fragments semés ont été dessinés à la chambre claire, et des examens répétés chaque jour pendant un mois ont montré que les pelotons mycéliens ne subissaient pas le moindre changement.

(3) La gélose additionnée d'une décoction de tubercules d'*Orobis tuberosus* permet au mieux de mettre en évidence les caractères morphologiques les plus intéressants de ce Champignon.

filaments principaux, sont formés de rameaux d'une ténuité extrême, ramifiés dichotomiquement et formant des enchevêtrements complexes (Pl. IX, fig. 1). Les vésicules sont des sporanges avortés, capables de germer en filaments mycéliens.

Ce Champignon, qui paraît appartenir à une espèce nouvelle et que je désignerai sous le nom de *Mucor Solani*, répond à la diagnose suivante :

Mucor Solani. — Sporangiophores dressés, le plus souvent non ramifiés (exceptionnellement ramifiés près du sommet). Gazon de 2 à 4 centimètres de haut, serré et fin, blanc cotonneux. Sporangies sphériques de $36\ \mu$ de diamètre moyen (dimensions extrêmes : 30 à $57\ \mu$), ou subsphériques ($25 \times 24\ \mu$ à $45 \times 42\ \mu$), gris ou brun jaunâtre. Membrane laissant une collerette. Columelles sus-jacentes, sphériques ou légèrement aplaties à la base, de $16\ \mu$, 5 de diamètre. Spores lisses ellipsoïdes, rarement rondes, ordinairement de $46,5 \times 3\ \mu$ (dimensions extrêmes : $3 \times 3\ \mu$ à $7 \times 5\ \mu$).

Zygospores inconnues.

Le *Mucor Solani* est une espèce voisine du *Mucor hiemalis* Wehmer ; il en diffère par ses columelles sus-jacentes et par la forme de ses spores, qui sont moins allongées.

47. Inoculations expérimentales. — Dans les mois qui ont suivi son isolement, ce *Mucor* a été inoculé par piqure au voisinage de plantules aseptiques de Pomme de terre, développées soit dans de la terre stérilisée, soit dans des solutions nutritives gélosées. Les radicelles exercent une attraction manifeste sur le Champignon qui, alors qu'il croît faiblement dans la profondeur du milieu environnant, prend autour d'elles un développement exubérant. Elles apparaissent en coupe entourée d'un épais réseau mycélien qui forme une sorte de mycorhize ectotrophe. Au contact de la racine, le mycélium différencie d'énormes dilatations vésiculeuses enkystées, qui rappellent de très près les formes de pénétration de l'endophyte. Ces vésicules sont découpées par des incisions en digitations dirigées vers la racine (Pl. IX, fig. 2) ; plus tard, il se développe des disques adhésifs appliqués contre la paroi de l'assise subéreuse, qu'ils invaginent au moyen de bourgeons en forme de coin (Pl. IX, fig. 3).

A un stade ultérieur, le mycélium pénètre dans la racine, et, au lieu de croître en droite ligne à travers tous les tissus, à la manière des impuretés banales, il se localise dans les cellules corticales, où il forme des pelotons très comparables à ceux de l'endophyte (Pl. IX, fig. 4). Il développe même des

ébauches d'arbuscules (Pl. IX, fig. 5) et donne naissance à des vésicules intracellulaires parfaitement caractérisées (Pl. IX, fig. 6). Par ses figures de pénétration très particulières et par son mode de développement intracellulaire, ce Champignon ressemble donc à l'endophyte des *Solanum*; des expériences plus complètes sont encore nécessaires pour décider s'il doit lui être identifié; mais il existe déjà de fortes présomptions en faveur de cette identité.

CHAPITRE VII

SYMBIOSE ET ÉVOLUTION

48. **Résumé général.** — Les principaux résultats établis dans ce qui précède peuvent être résumés comme il suit :

1^o Chez la Pomme de terre et l'*Orobis tuberosus* issus de graines, l'établissement de la symbiose entraîne la tubérisation des bourgeons de la base de la tige. Si l'on soustrait ces plantes à l'action des Champignons symbiotiques, sans faire varier les autres conditions de leur vie, ces mêmes bourgeons se différencient en tiges grêles et ne produisent pas de tubercules.

2^o Tandis que le cycle évolutif de la Pomme de terre est caractérisé par une alternance bien marquée des phases de différenciation et de tubérisation, chez l'*Orobis tuberosus*, les tubercules une fois formés continuent à s'accroître indéfiniment. Le premier de ces types de développement est lié à une symbiose intermittente, le second à une symbiose continue.

3^o Diverses plantes (Pomme de terre, *Orobis tuberosus*, Ophrydées) peuvent, comme il résulte de ce qui précède, adopter deux modes de développement, selon qu'elles sont soumises ou non à la symbiose ; dans le premier cas, elles sont réduites à une tige aérienne unique et produisent des organes pérennants aux dépens de leurs bourgeons basilaires ; — dans le second cas, elles sont rameuses dès la base et dépourvues d'organes pérennants. Il existe des exemples d'espèces d'un même genre, telles que le *Mercurialis perennis* et le *Mercurialis annua*, qui se distinguent essentiellement par des caractères végétatifs de même ordre ; dans ce cas encore, on retrouve la même relation que précédemment entre la symbiose et le port de la plante.

4° Il résulte des statistiques relatives à la répartition des mycorhizes que, en règle générale, les plantes vivaces sauvages hébergent des Champignons, tandis que les plantes annuelles en sont dépourvues. L'étude de trois plantes annuelles (*Orobis coccineus*, *Mercurialis annua*, *Solanum nigrum*) montre que ces végétaux peuvent, comme leurs congénères vivaces, se laisser pénétrer par les endophytes, mais qu'ils s'en affranchissent totalement, à brève échéance, par une phagocytose énergétique.

5° Dans tous les cas étudiés, la symbiose peut être définie comme la limite vers laquelle tend l'association de deux commensaux quand leurs actions réciproques s'équilibrent. Les plantes résistent, avec des succès divers, à l'attaque des Champignons, en mettant en œuvre successivement des processus d'immunité mécanique, cellulaire et humorale. On reconnaît là les réactions essentielles qui caractérisent l'immunité dans les maladies animales.

Tous ces faits sont rigoureusement superposables à ceux que Noël BERNARD a mis en évidence chez les Orchidées ; ils sont conformes aux prévisions de la théorie qu'il a déduite de l'étude de ces plantes et, par là, en confirment la valeur.

Le moment est donc venu de rappeler la portée générale de cette doctrine et de passer en revue les faits récemment établis qu'elle permet de coordonner.

49. **Hérédité et variation.** — L'existence de tubercules, leur forme et leur structure, représentent chez une plante donnée des caractères stables et héréditaires, que les systématiciens font figurer dans la diagnose de l'espèce, et qui sont généralement d'un bon usage pour sa détermination. Or nous venons de voir que ces caractères sont sous la dépendance étroite du parasitisme de Champignons. A côté des caractères spécifiques qui tiennent à la nature des germes de l'espèce, ou, plus précisément, à la nature des chromosomes, il en existe donc d'autres, apparemment aussi stables, qui dépendent de facteurs externes. On conçoit que ces derniers caractères, au cas où les facteurs qui les déterminent restent ignorés, puissent être confondus parmi les premiers.

Quoi qu'il en soit, leur fixité est liée à la permanence des conditions de vie dont ils dépendent, au maintien constant de ces conditions de génération en génération. Si l'on découvre ces conditions particulières et si l'on parvient à les modifier ou à les supprimer, on doit s'attendre à voir les caractères correspondants varier ou dégénérer.

C'est, en fait, ce que nous avons vu se produire lorsque nous avons fait varier les conditions de la symbiose chez des plantes soumises à ce mode de vie : une Pomme de terre, un *Orobis tuberosus*, soustraits à l'action de leurs Champignons symbiotiques, cessent de former des tubercules, perdent par conséquent l'un de leurs caractères spécifiques les plus saillants. Il y a donc là un facteur indéniable de variation. Noël BERNARD prétend, et c'est l'essentiel de sa théorie, que ce facteur a pu jouer un rôle fondamental dans la formation des espèces végétales.

50. **L'évolution des Orchidées.** — Cette manière de voir se fonde essentiellement sur une étude précise de la symbiose dans les diverses séries phylétiques des Orchidées. Ce groupe se prête mieux que tout autre à une étude de ce genre. « La famille des Orchidées, remarque Noël BERNARD [5], est l'une des plus riches en espèces de tout le règne végétal ; la conformation complexe des fleurs y offre beaucoup de variété, et l'organographie florale comparée rend moins illusoire dans ce cas que dans d'autres la tentative de reconstituer un arbre généalogique... On a donc un moyen indépendant de toute considération relative à la symbiose pour apprécier le degré d'évolution des espèces actuelles. » Partant de là, Noël BERNARD s'est proposé d'examiner comment l'état de symbiose se modifie quand on passe d'Orchidées simples et primitives à d'autres qui atteignent un plus haut degré de complexité.

Cette enquête l'a conduit à reconnaître que l'évolution des Orchidées a concordé avec une adaptation de plus en plus parfaite de ces plantes à la symbiose. Au rang le plus inférieur, représenté par le *Bletilla hyacinthina*, la symbiose est, comme on l'a vu, facultative au début de la vie, et l'apparition du premier tubercule est tardive. Chez le *Bletilla* adulte,

la symbiose est la règle, mais elle reste intermittente : chaque année des racines poussent et s'infestent, en même temps que se développent des tiges aériennes ; l'organisme réagit à l'infestation en produisant un tubercule ; puis les racines meurent, comme les tiges, laissant la plante réduite à un rhizome indemne de Champignons. Il s'agit là d'une forme primitive de symbiose, et, selon la remarque de Noël BERNARD, l'état d'un *Bletilla* est en réalité bien proche de celui d'une plante sujette à une maladie cryptogamique bénigne, capable de récidiver.

Chez des Orchidées plus évoluées, telles que les Cattléyées, la symbiose est devenue nécessaire au début de la vie, et le tubercule embryonnaire se forme dès la germination ; mais, à l'état adulte, l'infestation est, comme dans le cas précédent, intermittente, et le mode de végétation reste conforme au type sympodial.

C'est seulement chez les Orchidées les plus évoluées, telles que les *Phalænopsis*, les *Vanda* ou le *Neottia Nidus-avis* que la symbiose atteint sa forme la plus parfaite ; non seulement elle est, ici encore, nécessaire dès le début de la vie, mais elle cesse d'être intermittente pour devenir continue : la plante une fois infestée héberge des Champignons pendant tout le cours de sa vie, et sa végétation devient monopodiale. Certaines de ces Orchidées à végétation monopodiale, constituées par une tige dressée ligneuse surmontée d'un bouquet de feuilles, sont de véritables arbres, ayant le port des Palmiers.

Une telle concordance entre l'évolution et l'adaptation de plus en plus parfaite à la symbiose, qui se retrouve dans les diverses séries phylétiques des Orchidées, rend hautement vraisemblable que les deux phénomènes sont corrélatifs et que l'action continue des Champignons a eu un rôle essentiel pour la formation des espèces de cette famille. Mais une symbiose de plus en plus parfaite se caractérise, comme on vient de le voir, par un séjour de plus en plus prolongé des Champignons dans les cellules de leurs hôtes. Or, on sait que l'activité, ou, si l'on veut, la virulence des endophytes, qui s'atténue lorsque ces organismes mènent la vie autonome,

s'exalte au contraire lorsqu'ils vivent continûment à l'état de symbiose. On est conduit par là à se demander si l'évolution des Orchidées n'a pas été entraînée par une exaltation progressive d'activité de leurs Champignons commensaux. S'il en est ainsi, cette évolution doit pouvoir être reproduite expérimentalement ; Noël BERNARD [5] l'a reproduite en effet chez le *Bletilla hyacinthina*.

Si on inocule des semis de graines de cette espèce avec un Champignon d'activité moyenne, le mycélium pénètre les cellules de l'embryon, mais y est rapidement détruit par phagocytose ; les graines donnent des plantules grêles, à entrenœuds espacés, analogues aux formes juvéniles de la plupart des végétaux. Mais, après plusieurs tentatives de pénétration du Champignon, la symbiose finit par s'établir ; il se forme dès lors un tubercule à la partie supérieure de la tige : à la symbiose tardive correspond ici une tubérisation tardive. Si on inocule le semis avec un Champignon rendu très actif par un séjour dans des plantules, la symbiose s'établit d'emblée, et il se forme, dès la germination, conformément à la loi générale du développement des Orchidées, un tubercule embryonnaire. Sous l'influence de Champignons d'activité exagérée, le *Bletilla* abandonne donc son mode de germination normal pour donner des plantules analogues à celles des Orchidées plus évoluées.

De même un *Cymbidium*, inoculé avec le *Rhizoctonia mucoroides*, Champignon des *Phalænopsis* et des *Vanda*, qui sont parmi les plus évoluées des Orchidées, a abandonné son mode de germination habituel pour donner une plantule analogue à celle de l'*Eulophidium maculatum*. Des mutations plus remarquables encore se sont produites dans les cas, d'ailleurs assez rares, où une association anormale a pu être réalisée entre des embryons de *Vanda* et le *Rhizoctonia lanuginosa*, commensal des *Odontoglossum* ; un certain nombre de graines soumises à l'action de ce Champignon ont donné des tubercules embryonnaires ramifiés, ou plus exactement fasciés, fort différents des plantules normales de *Vanda*.

Les progrès de la symbiose ayant entraîné la formation de plus en plus précoce des tubercules, il est naturel de penser

que les ancêtres directs des Orchidées étaient des plantes où la tubérisation devait se produire plus tardivement encore que chez le *Bletilla*. Cette hypothèse conduit à admettre que « des plantes annuelles atteintes, d'abord accidentellement, par des Champignons ont cessé de fleurir dans leur première année et que, par compensation, des bourgeons latéraux de leurs tiges ont donné naissance à des organes pérennants, bulbes ou branches de rhizome (1). La formation de ces organes serait ensuite devenue de plus en plus précoce, en même temps que l'association avec les Champignons devenait à chaque génération plus prolongée et plus intime ».

51. Les étapes de l'évolution. — La vérification de cette hypothèse exigerait une étude comparée de la symbiose dans des familles telles que les Liliacées ou les Amaryllidées, que l'on peut considérer comme vraisemblablement voisines de la souche ancestrale des Orchidées. A défaut d'une telle étude, les exemples étudiés dans le présent travail offrent l'image des étapes que ces plantes ont dû parcourir pour atteindre à l'état de haute différenciation représenté par les Orchidées.

Le degré le plus inférieur de cette évolution est occupé par la Pomme de terre. Non seulement, chez cette espèce, les graines germent sans Champignon, mais encore la symbiose ne s'établit qu'irrégulièrement. Beaucoup d'individus s'affranchissent des endophytes et évoluent sans produire de tubercules, se comportant comme des plantes annuelles. D'autres tolèrent leurs hôtes, mais dans ce cas la symbiose s'établit tardivement, et la tubérisation qui en est la conséquence est de même tardive : les bourgeons latéraux de la tige ne forment des tubercules qu'après avoir différencié des stolons grêles plus ou moins allongés (fig. 9, A). Par la suite, la symbiose est intermittente, et la plante se développe selon le mode sympodial.

(1) Le phénomène inverse a pu d'ailleurs se produire ; des plantes vivaces, en s'affranchissant des Champignons, auraient alors donné naissance à des espèces annuelles. L'histoire des Mercuriales suggère comment deux espèces, l'une annuelle et l'autre vivace, ont pu se différencier, par un processus de ce genre, aux dépens d'une souche ancestrale commune.

L'adaptation à la symbiose est déjà moins imparfaite chez l'*Orobus tuberosus*. Ici encore, la germination est autonome, et la plante développe d'abord une ou deux tiges feuillées bien différenciées. Mais la virulence du Champignon a plus de fixité que dans le cas précédent, et tous les individus exposés à la pénétration des endophytes contractent la symbiose avec eux. La tubérisation est moins tardive que chez



Fig. 9. — Schéma des étapes de l'évolution, montrant la tubérisation d'autant plus précoce que l'adaptation à la symbiose est plus parfaite. — A, *Solanum tuberosum*; B, *Orobus tuberosus*; C, *Ficaria ranunculoides*; D, plantule de *Bletilla hyacinthina* inoculée avec un *Rhizoctonia repens* atténué; E, plantule de *Bletilla hyacinthina* inoculée avec un *Rhizoctonia repens* actif; F, tubercule embryonnaire de *Cattleya*. — t, tubercules. En D et F, les régions infestées, vues par transparence, sont ombrées. — C à F d'après Noël BERNARD.

la Pomme de terre : les bourgeons latéraux de la tige principale cessent de se différencier sans avoir passé par aucune phase d'élongation, et ces bourgeons avortés restent confondus dans le tubercule unique qui se développe à la base de la plante (fig. 9, B). Enfin, la symbiose une fois établie reste continue, et les tubercules, au lieu de disparaître chaque année, continuent à s'accroître indéfiniment.

Le cas de la Ficaire, étudié par Noël BERNARD [1], représente un progrès vers la symbiose et la tubérisation précoces, telles qu'elles sont réalisées chez les Orchidées. Les graines de Ficaire ont un embryon rudimentaire, qui se différencie pendant la digestion de l'albumen; mais la phase

juvénile de différenciation est ici beaucoup plus courte que chez les deux plantes précédentes ; elle ne va pas au delà du déploiement du cotylédon unique de la plantule. Les racines s'infestent en effet dès leur formation, et aussitôt le bourgeon terminal cesse d'évoluer en rameau et produit un tubercule (fig. 9, C).

Cet exemple nous amène à celui du *Bletilla* inoculé avec des Champignons atténués, qui, après une courte phase d'élongation, produit un tubercule aux dépens de son bourgeon terminal (fig. 9, D). On passe de là au cas du *Bletilla* inoculé avec un mycélium actif, qui germe directement en un tubercule embryonnaire (fig. 9, E), et, enfin, au cas des Orchidées plus évoluées, où la symbiose est nécessaire à la germination, et où la phase initiale du développement est une phase de tubérisation (fig. 9, F).

52. L'origine des plantes vasculaires. — Ces exemples montrent comment la symbiose, après avoir provoqué l'établissement de l'état vivace, a pu entraîner une évolution progressive de l'appareil végétatif des plantes qui lui étaient soumises de plus en plus étroitement. Mais on est souvent porté à attribuer moins d'importance, en systématique, aux caractères végétatifs qu'aux particularités de la reproduction, et à fonder de préférence sur les homologues de l'appareil reproducteur les hypothèses relatives à la filiation des groupes. Cette manière de voir ne saurait pourtant être exclusive, et il est permis de se demander si, dans certains cas, des variations de l'appareil végétatif, et notamment l'apparition de l'état vivace, n'ont pas été à la base de la formation de grands groupes de végétaux.

La série des Archégoniates est remarquable par l'uniformité du cycle sexuel des plantes par ailleurs fort disparates qu'elle rassemble. Mais les deux grands groupes qui la composent se distinguent par des différences telles dans la forme et l'évolution de l'appareil végétatif qu'elles ont frappé d'abord les naturalistes, au point de justifier la répartition de ces végétaux en deux embranchements distincts. Les Muscinées ont un gamétophyte plus ou moins complexe, sou-

vent vivace, et un sporophyte toujours monopodial et annuel. Chez les Cryptogames vasculaires les plus inférieures, telles que les Lycopodiacées, le sporophyte est toujours vivace, aussi bien que le prothalle. On est porté à situer la souche ancestrale des Lycopodiacées, et, par leur intermédiaire, des plantes vasculaires, au voisinage des Muscinées à gamétophyte peu élevé en organisation, telles que certaines Hépatiques à thalle.

Or, le thalle des Hépatiques est souvent vivace, et, dans ce cas, il héberge des Champignons symbiotiques ayant tous les caractères des Champignons de mycorhizes ; par contre, le sporophyte annuel de ces plantes est toujours indemne d'infestation. Chez les Lycopodiacées, les prothalles vivaces sont infestés, et la symbiose atteint chez eux un haut degré de perfection, puisque les spores dont ils dérivent ne peuvent germer qu'avec le concours de Champignons ; ces gamétophytes, infestés dès l'origine, sont d'ailleurs tubérisés et prennent au début de leur développement des formes en toupies comparables aux formes juvéniles des Orchidées. Mais, au contraire de ce qui arrive chez les Hépatiques, l'infestation se propage ici au sporophyte dès la germination de l'œuf : chez le *Lycopodium cernuum* ou le *Phylloglossum Drummondii*, par exemple, la jeune plantule issue de l'œuf forme précocement un petit tubercule infesté, appliqué sur le sol. Par la suite, le sporophyte reste soumis à la symbiose et prend l'état vivace.

Partant de ces données, Noël BERNARD suggère que les plantes vasculaires primitives dérivent, par une adaptation parfaite à la symbiose, de quelque forme disparue d'Hépatique ou d'Anthocérotale à gamétophyte infesté et vivace. Le sporophyte monopodial et annuel de cette forme ancestrale supposée, envahi par les Champignons commensaux du gamétophyte, a réagi en produisant un tubercule et s'est affranchi en prenant l'état vivace. Ainsi, l'apparition des plantes vasculaires aurait été la conséquence d'une haute adaptation de certaines Muscinées à la vie en symbiose avec des Champignons.

Il serait important, pour contrôler cette hypothèse, d'étu-

dier l'influence de la symbiose sur le développement du gamétophyte chez les Hépatiques. Des observations récentes de M. Marcel DENIS fournissent à cet égard des suggestions intéressantes [15]. Dans les thalles d'un *Aneura* sp., M. DENIS a découvert une infestation particulièrement importante, due à un Champignon filamenteux qui forme des pelotons intracellulaires ; la zone envahie, qui comprend plusieurs assises de cellules, est beaucoup plus étendue que chez les *Aneura* normaux. Or cette plante très largement infestée présentait, par rapport au type de végétation habituel des Hépatiques à thalle, des caractères aberrants ; le thalle était très charnu, avait l'aspect coralloïde qu'offrent les racines de certains saprophytes et était dépourvu de chlorophylle ; il se rapprochait par là du prothalle tubérisé et souvent sans chlorophylle des Lycopodes. On a donc là l'exemple d'un gamétophyte d'Hépatique, qui, par suite d'une adaptation plus étroite à la symbiose, a acquis quelques-uns des caractères les plus saillants du gamétophyte des Lycopodiacees.

Les remarquables expériences de M. RAYNERS sur le *Calluna vulgaris* [38, 39] montrent, d'autre part, comment l'apparition des racines, qui est l'un des traits distinctifs essentiels des plantes vasculaires, peut dépendre, dans certains cas, de l'action de Champignons symbiotiques. Des graines de *Calluna*, semées aseptiquement, après désinfection de leur tégument, sur des milieux gélosés stérilisés, germent en donnant des plantules rabougries, dépourvues de racines. Semées, toutes choses égales d'ailleurs, au contact du *Phoma* qui est l'endophyte de cette espèce, elles développent des plantules d'aspect normal, abondamment pourvues de racines.

53. Symbiose et évolution chez les Lichens. — Les exemples précédents laissent entrevoir le rôle essentiel que la symbiose a pu jouer dans l'évolution des plantes supérieures. Le cas des Lichens suggère que le même facteur a pu agir aussi sur l'évolution de Thallophytes. M. et M^{me} Fernand MOREAU ont entrepris, du point de vue où s'était placé Noël BERNARD pour ses recherches, une étude de la symbiose lichénique, qui, pour en être à ses débuts, n'en a pas moins fourni des résultats

suggestifs [34]. Partant de ce fait que les hyphes des Lichens, lorsqu'une Algue est introduite dans une région du thalle où elle ne pénètre généralement pas, réagissent à son contact en produisant un plectenchyme cortical, ces auteurs en viennent à considérer le thalle aérien du Lichen comme l'équivalent d'un organe déformé par un parasite; les Lichens seraient ainsi des Champignons malades, atteints d'une maladie dont l'agent infectieux est une Algue. Il y aurait donc à distinguer chez ces végétaux deux groupes de caractères : les uns en rapport immédiat avec la symbiose et récemment acquis, les autres indépendants de la symbiose et remontant à un passé lointain.

Dans une note ultérieure [35], à laquelle il a été fait allusion plus haut (Voir chap. IV, § 33), M. F. MOREAU signale que les associations instables qui résultent chez les Lichens de l'invasion d'Algues étrangères peuvent, en certains cas, acquérir les caractères de stabilité de la symbiose lichénique habituelle; or le complexe qui résulte de cette symbiose anormale diffère profondément du thalle primitif et mérite d'être décrit comme une espèce nouvelle. C'est ce qui arrive chez une Stictacée, le *Ricasolia amplissima*. Chez ce Lichen, il est fréquent que des céphalodies externes ou internes se forment sous l'influence d'une Cyanophycée. L'évolution de ces céphalodies peut être arrêtée par la dégénérescence et la mort des Algues, mais souvent elles s'élèvent vers le cortex, dont elles écartent les éléments, et, faisant éruption à la face supérieure du Lichen, se ramifient de manière à constituer des arbuscules qui couvrent d'une végétation grisâtre la surface du thalle et méritent par leur fréquence de figurer dans la diagnose de l'espèce. Certains lichénologues considèrent ces formations comme des Lichens adventifs, auxquels ils donnent le nom de *Dendriscoaulon bolacynum*. Ces faits, caractérisés par l'apparition brusque d'un être nouveau, né d'une association anormale, sont à mettre en parallèle avec les mutations que Noël BERNARD a observées chez les *Vanda* et les *Cymbidium*, dans les cas où il a réussi à adapter ces Orchidées à la symbiose avec des Champignons distincts de leurs hôtes normaux.

54. **La symbiose chez les Bactéries.** — D'autres expériences suggèrent que, chez des Thallophytes d'organisation beaucoup plus rudimentaire, tels que les Bactériacées, la symbiose peut encore agir comme facteur d'évolution. M. PINOY [37] a montré que les Myxobactéries adoptent deux modes de végétation différents, selon qu'elles sont associées ou non à une Bactérie symbiotique. Un *Chondromyces crocatus*, cultivé en culture pure, se développe indéfiniment à la manière des Bactéries ordinaires, en donnant des colonies indifférenciées. Associé à une Bactérie voisine du *Micrococcus luteus*, ce même germe édifie des appareils d'une haute complexité, comprenant un pied souvent ramifié, supportant une tête arrondie sur laquelle sont insérés des kystes cylindriques. Pied, tête et kystes sont formés de Bactéries disposées suivant des alignements réguliers et cimentées par une gangue cornée.

La symbiose étant définie comme une association durable entre deux organismes antagonistes dont les forces s'équilibrent, on pouvait espérer la réaliser en partant d'une Bactérie capable de produire chez un animal soit des infections mortelles, soit des infections bénignes. Il suffisait pour cela de chercher la condition où les deux organismes en présence arriveraient à tolérer la vie commune prolongée. C'est ce que j'ai tenté de réaliser avec une Bactérie pyogène, le *Staphylococcus aureus* [25]. Inoculé à dose convenable au Cobaye, ce germe provoque une réaction inflammatoire locale, caractérisée par un afflux de leucocytes polynucléaires, se produisant au point envahi par les Bactéries. Les leucocytes et les microbes ainsi mis en présence peuvent subir des sorts divers : tantôt les Staphylocoques, au moyen des toxines qu'ils sécrètent, détruisent en masse les leucocytes qui les environnent ; tantôt, au contraire, ces derniers éléments triomphent de l'invasion et demeurent vivants, après avoir détruit les Bactéries. Mais, si la dose de germes injectés est bien choisie, microbes et leucocytes restent vivants au contact les uns des autres, réalisant une sorte de symbiose. En pareil cas, les colonies de Staphylocoques qui occupent le centre des nodules leucocytaires adoptent un mode de

végétation particulier ; leurs cellules périphériques se différencient en éléments claviformes à membrane épaisse et stratifiée, qui se groupent suivant une disposition rayonnée autour de l'amas central de *Coccus*. Des organismes très différents du Staphylocoque, tels que le Bacille tuberculeux, certaines Streptothricées et même des Champignons (*Monilia albicans* [24], peuvent adopter un type de végétation identique, lorsqu'ils s'adaptent à la symbiose avec des leucocytes de Mammifères. Ces exemples de convergence montrent qu'ici encore la forme d'un être peut dépendre non seulement de la nature de ses germes, mais encore des circonstances qui entourent son développement.

55. **Symbiose et évolution chez les animaux.** — Les faits qui viennent d'être énumérés montrent que la doctrine de l'évolution dans la symbiose, que Noël BERNARD avait fondée sur l'étude comparée de divers groupes de plantes supérieures, peut être sans invraisemblance généralisée à l'ensemble de la série végétale, sans en excepter les Thallophytes les plus inférieurs. Est-il possible de donner à cette doctrine toute son ampleur en l'étendant au règne animal? Nos connaissances sur la symbiose chez les animaux sont trop fragmentaires pour qu'une telle généralisation ne soit encore prématurée. Pourtant certains groupes, les Insectes notamment offrent des exemples nombreux d'associations héréditaires avec des microorganismes qui paraissent jouer un rôle dans leur vie. Les études publiées par M. ROUBAUD sur la symbiose chez les Mouches tsetsés sont à ce point de vue parmi les plus suggestives [40]. Les tsetsés ou Glossines se distinguent des autres Mouches par des caractères aberrants, dont les principaux sont leur régime hémophage strict et leur reproduction pupipare. Par une série d'observations et de raisonnements fort ingénieux, M. ROUBAUD établit que ces deux caractères sont corrélatifs et sont sous la dépendance de la symbiose vraisemblablement héréditaire que les Glossines contractent obligatoirement avec des Levures. En fait, les Mouches piqueuses, telles que les Stomoxes, chez lesquelles le régime hémophage n'est pas exclusif, sont ovipares et ne sont pas

soumises à la symbiose. Par contre, tous les Diptères pupipares sont, comme les Glossines, des hémophages stricts et, comme elles, hébergent des Levures symbiotiques dans des cellules spécialisées de leur intestin. Ainsi a pu se réaliser « cette remarquable série adaptative que nous offre, dans le sens de l'ectoparasitisme, l'ensemble des Diptères pupipares, chez lesquels on peut suivre de façon si complète, avec l'atrophie progressive des ailes et la dégradation parasitaire croissante, une modification si complète du type de la Mouche » [ROUBAUD]. Nous avons bien là l'exemple d'une évolution progressive réalisée par tout un groupe d'animaux et dont la cause déterminante première est la symbiose avec des microorganismes. A ce point de vue, les observations de M. ROUBAUD sur les Mouches sont à mettre en parallèle avec les expériences de Noël BERNARD sur les Orchidées.

Des faits de même ordre se retrouvent-ils à d'autres degrés de l'échelle animale ? Des recherches récentes tendent à montrer que, chez les Mammifères même, des associations symbiotiques ont pu n'être pas sans influence sur le développement. MM. MASSON et REGAUD [26 à 28] ont, en effet, signalé la présence constante et normale, dans le tissu lymphoïde de l'intestin du Lapin, de nombreuses Bactéries, et ils suggèrent que la structure très particulière des organes lymphoïdes intestinaux chez cette espèce est liée à la symbiose.

Ainsi la théorie de l'évolution par la symbiose permet de coordonner des faits nombreux se rapportant aux groupes les plus variés d'être vivants. Elle apparaît par là comme un instrument de travail de valeur éprouvée. Les découvertes de PASTEUR ont montré le rôle fondamental que les microorganismes jouent dans la nature. Si l'on adopte l'hypothèse générale qui vient d'être esquissée, il convient de faire figurer la genèse et l'évolution des espèces parmi les phénomènes qui relèvent de leur action. Le domaine de la microbiologie se trouve dès lors immensément accru, et, grâce aux méthodes créées par PASTEUR, on peut avoir l'espoir d'arriver à une connaissance précise du déterminisme de l'évolution, qui fournira sans doute le moyen de la diriger.

APPENDICE

I. — STATISTIQUES.

Pour apprécier le degré d'infestation des plantes étudiées, j'ai eu recours à la méthode statistique suivante : pour chaque plante, les racines ont été coupées en menus fragments, qui ont été rassemblés en faisceau ; après inclusion à la paraffine, le faisceau de racines a été débité en coupes de $1/150^e$ de millimètre. Des coupes ont été prélevées de quinze en quinze dans la série obtenue et examinées ; ces examens, portant sur des coupes distantes de $0^{mm},1$, ne pouvaient laisser échapper aucune infestation importante.

Cela fait, j'ai compté, pour chacune des plantes étudiées, le nombre total de racines ainsi examinées et le nombre de racines infestées ; pour chacune de ces dernières, l'état du Champignon et l'étendue de l'infestation ont été notés.

Les résultats de ces statistiques sont résumés dans les tableaux suivants. J'y ai noté (dans la colonne de droite) le rapport (appelé par abréviation rapport $\frac{\rho}{l}$) du nombre de racines renfermant du mycélium vivant au nombre total de racines infestées. Les nombres de cette colonne sont les plus importants à considérer, puisqu'ils donnent en quelque sorte la mesure de l'adaptation du Champignon à la vie symbiotique. Le rapport qu'ils expriment tend vers l'unité dans les cas où la symbiose est réalisée, vers zéro dans le cas contraire : on verra, par la lecture des tableaux, que la symbiose, ainsi exprimée numériquement, coïncide toujours avec la tubérisation et l'absence de symbiose avec l'absence d'organes pérennants.

A. — « *Solanum tuberosum* ».

Plantes issues de graines cultivées dans de la terre prélevée au pied de Douces-Amères infestées. Les échantillons de la première série d'expériences proviennent de graines achetées dans le commerce ; — ceux de la deuxième série appartiennent à la variété « Jaune de Norvège » ; — ceux de la troisième série proviennent de graines prises dans des fruits récoltés sur une même plante, de variété indéterminée.

SÉRIES D'EXPÉ- RIENCES.	N ^{os} D'ORDRE DES PLANTES.	DURÉE de la CULTURE.	DESCRIPTION DES PLANTES.	RACINES EXAMINÉES.	RACINES INFESTÉES.	RACINES renfermant du mycélium vivant.	RAP- PORT $\frac{v}{i}$.
1 ^{re} série.	1	5 mois et 10 jours.	Une tige aérienne uni- que. <i>Nomb. stolons tubérisés</i> (Pl. II, fig. 2).	266	80 (30,7 %)	70 (26,3 %)	$\frac{87}{100}$
	2	5 mois et 10 jours.	Une tige aérienne uni- que. <i>Nombreux sto- lons tubérisés</i> (Pl. I, fig. 3).	209	107 (51 %)	101 (48,3 %)	$\frac{94}{100}$
	3	5 mois et 10 jours.	4 tiges aériennes. Ni stolons <i>ni tubercules</i> (Pl. I, fig. 1).	868	9 (1,03 %)	0	0
	A	4 mois et 17 jours.	Une tige aérienne uni- que. <i>Plusieurs sto- lons tubérisés</i> (Pl. I, fig. 4).	680	34 (5 %)	34 (5 %)	$\frac{100}{100}$
	B	4 mois et 17 jours.	4 tiges aériennes; sto- lons souter. <i>non tu- bérisés</i> (Pl. II, fig. 1).	1390	1 (0,07 %)	0	0
	C	4 mois et 17 jours.	3 tiges aériennes; sto- lons souter. <i>non tu- bérisés</i> (Pl. III, fig. 1).	3 080	19 (0,61 %)	6 (0,19 %)	$\frac{33}{100}$
2 ^e série.	D	5 mois.	Nombreuses tiges aé- riennes ; ni stolons <i>ni tubercules</i> (Pl. I, fig. 2).	1 255	20 (1,5 %)	0	0
	F	5 mois.	Une haute tige aé- rienne ; trois autres très peu dévelop- pées ; <i>nombreux sto- lons tubérisés</i> (Pl. III, fig. 2).	398	44 (11 %)	44 (11 %)	$\frac{100}{100}$
	α (1)	6 mois.	3 hautes tiges aérien- nes ; <i>stolons tubé- risés</i> .	909	16 (1,7 %)	12 (1,3 %)	$\frac{75}{100}$
3 ^e série.	η	6 mois.	3 hautes tiges aérien- nes ; nombreux sto- lons <i>non tubérisés</i> .	851	42 (4,9 %)	0	0
	I	5 mois.	Une tige aérienne uni- que ; 2 stolons <i>tubé- risés</i> .	180	59 (32,8 %)	47 (26 %)	$\frac{79}{100}$
	II	5 mois.	6 tiges aériennes ; ni stolons <i>ni tubercules</i> .	604	108 (17,8 %)	30 (4,8 %)	$\frac{27}{100}$
	III	5 mois.	4 tiges aériennes ; ni stolons, <i>ni tuber- cules</i> .	227	36 (15 %)	12 (5 %)	$\frac{33}{100}$
	IV	5 mois.	Une tige aérienne uni- que ; 2 stolons <i>tubé- risés</i> .	155	31 (20 %)	28 (18 %)	$\frac{90}{100}$

(1) La plante α , bien que pourvue de quelques tubercules, se distinguait des autres plantes tubérisées par le développement exubérant de son appareil aérien; elle représente donc un type intermédiaire entre les deux cas extrêmes caractéristiques. On remarquera que, chez cette plante à caractères mixtes, l'infestation est relativement restreinte, bien que le rapport $\frac{v}{i}$ reste élevé, comme il est de règle chez les plantes tubérisées.

B. — Orobes.

Plantes issues de graines, cultivées dans de la terre prélevée au pied d'*Orobis tuberosus* infestés.

NATURE DES PLANTES.	N ^{os} D'ORDRE des échantil- lons.	DURÉE de la CULTURE.	RACINES EXAMINÉES.	RACINES INFESTÉES.	RACINES renfermant du mycélium vivant.	RAP- PORT $\frac{p}{i}$.
<i>Orobis tuberosus</i> .	45	6 mois.	56	28 (50 %)	26 (46 %)	$\frac{26}{28}$ <u>100</u>
	21	9 mois	200	120 (60 %)	114 (57 %)	$\frac{114}{120}$ <u>100</u>
<i>Orobis coccineus</i> .	46	2 mois et 9 jours.	38	22 (57 %)	4 (9 %)	$\frac{4}{22}$ <u>100</u>
—	42	2 mois et 10 jours.	300	296 (98 %)	10 (3,3 %)	$\frac{10}{296}$ <u>100</u>
—	43	2 mois et 10 jours.	82	76 (93 %)	2 (2,4 %)	$\frac{2}{76}$ <u>100</u>
—	44	2 mois et 10 jours.	135	114 (84 %)	7 (5 %)	$\frac{7}{114}$ <u>100</u>
—	37	4 mois et 8 jours.	168	132 (78 %)	9 (5 %)	$\frac{9}{132}$ <u>100</u>
—	38	4 mois et 8 jours.	105	92 (87 %)	1 (0,9 %)	$\frac{1}{92}$ <u>100</u>

C. — Mercuriales.

Plantes récoltées dans des stations naturelles.

NATURE DES PLANTES.	N ^{os} D'ORDRE des échantil- lons.	RACINES EXA- MINÉES.	RACINES INFESTÉES.	RACINES renfermant du mycélium vivant.	RAP- PORT $\frac{p}{i}$.
<i>Mercurialis perennis</i> .	8	244	24 (9,8 %)	24 (9,8 %)	$\frac{24}{24}$ <u>100</u>
—	39	86	62 (72 %)	62 (72 %)	$\frac{62}{62}$ <u>100</u>
<i>Mercurialis annua</i> .	33	526	79 (15 %)	4 (0,76 %)	$\frac{4}{79}$ <u>100</u>
—	35	355	147 (41 %)	16 (4,5 %)	$\frac{16}{147}$ <u>100</u>

II. — TECHNIQUES.

Préparation des milieux de culture. — Pour préparer le milieu nutritif destiné aux cultures aseptiques de plantes, il importe de ne pas stériliser en mélange les divers sels minéraux qui entrent dans sa composition. Cette pratique entraînerait la formation de précipités. Je me suis arrêté à la technique suivante, qui permet d'obtenir des gélées parfaitement limpides.

Préparer les quatre solutions suivantes; les stériliser à l'autoclave.

Solution A :

Sulfate de magnésium	1 gramme.
Sulfate de sodium	1 —
Nitrate de potassium.....	1 —
Tartrate de potassium.....	1 —
Eau distillée	100 cent. cubes.

Solution B :

Phosphate bipotassique.....	1 gramme.
Eau distillée	50 cent. cubes.

Solution C :

Chlorure de calcium.....	1 gramme.
Eau distillée	50 cent. cubes.

Solution D :

Tartrate ferrico-potassique	0gr,02
Eau distillée.....	50 cent. cubes.

Dissoudre dans de l'eau distillée de la gélose préalablement lavée à l'eau courante pendant vingt-quatre heures (10 grammes de gélose p. 1 000 d'eau distillée); filtrer et répartir cette gélose dans de larges tubes de culture, à raison de 35 centimètres cubes par tube. Stériliser à l'autoclave.

Avant la prise en gelée, ajouter à chaque tube, au moyen de pipettes graduées stérilisées :

2 cent. cubes de la solution A	
1 cent. cube — — — B	
1 — — — — C	
1 — — — — D	

On obtient ainsi une gélose nutritive ayant la composition mentionnée ci-dessus (§ 15).

Techniques histologiques. — Les racines et tubercules destinés aux examens histologiques ont été fixés dans le liquide suivant :

Eau distillée.	10 cent. cubes.
Acide nitrique.	5 —
Formol du commerce.	5 —
Acide picrique à 1 p. 100 dans l'alcool à 95°.	80 —

Pour la coloration des coupes, en outre des méthodes de double coloration employées par Noël BERNARD [5], j'ai employé couramment la thionine phéniquée, qui donne de bonnes différenciations cytologiques des Champignons, malheureusement très fugaces.

La méthode suivante, empruntée à M. LEGROUX (1), donne une bonne coloration des membranes de l'endophyte :

Après dissolution de la paraffine, la lame est lavée à l'alcool méthylique, puis transportée face en dessus dans une boîte Laveran-Mesnil, et recouverte avec 1 centimètre cube du mélange colorant suivant :

Éosinate de bleu de méthylène.	7 grammes.
Éosinate de bleu de toluidine.	1 ^{gr} ,5
Bleu de toluidine.	0 ^{gr} ,5
Alcool méthylique à 99°,5.	490 cent. cubes.

Après une minute, verser 4 centimètres cubes d'eau distillée neutralisée au rouge neutre ; retourner la lame après mélange ; au bout de dix à quinze minutes, laver à l'eau ordinaire, différencier avec une solution de tanin orange au quart dans l'eau distillée neutralisée. Déshydrater à l'alcool éthylique, passer au toluène, monter à l'huile de cèdre.

Ce travail a été fait à l'Institut Pasteur et, en partie, au laboratoire de Botanique du Muséum d'Histoire naturelle, dirigé par M. J. COSTANTIN. J'adresse mes plus sincères remerciements à M. COSTANTIN pour l'accueil que j'ai trouvé dans son laboratoire et pour les nombreux encouragements qu'il m'a donnés.

(1) Voir LEGROUX (R.) et MAGROU (J.), *Ann. Institut Pasteur*, t. XXXIV, 1920.

Je dois à M. PINOY, de l'Institut Pasteur, plusieurs suggestions fort utiles, dont je le remercie ; c'est sur son conseil notamment que j'ai choisi comme objet d'étude l'*Orobis tuberosus*.

M. GUIGNARD a bien voulu s'intéresser à ces recherches et me fournir divers matériaux d'étude ; je lui en exprime toute ma reconnaissance.

Je remercie enfin les personnes qui ont bien voulu faciliter ma tâche en me procurant des graines ou autres échantillons nécessaires pour ces recherches.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. BERNARD (NOËL), Études sur la tubérisation (*Revue gén. de Bot.*, XIV, 1902).
2. ID., Conditions physiques de la tubérisation chez les végétaux (*C. R. Acad. des Sc.*, CXXXV, 1902).
3. ID., Mécanismes physiques d'actions parasitaires (*Bull. Soc. linnéenne de Normandie*, 5^e série, VI, 1902).
4. ID., Recherches expérimentales sur les Orchidées (*Revue gén. de Bot.*, XVI, 1904).
5. ID., L'évolution dans la symbiose (*Ann. Sc. nat. Bot.*, 9^e série, IX, 1909).
6. ID., Remarques sur l'immunité chez les plantes (*Bull. Institut Pasteur*, VII, 1909).
7. ID., L'origine de la Pomme de terre (*Bull. Soc. acad. d'Agriculture, Belles-Lettres, Sciences et Arts de Poitiers*, déc. 1909).
8. ID., Sur la fonction fungicide des bulbes d'Ophrydées (*Ann. Sc. nat. Bot.*, 9^e série, XIV, 1911, p. 223).
9. ID., Les mycorhizes des *Solanum* (*Ibid.*, p. 235).
10. M^{me} NOËL BERNARD et J. MAGROU, Sur les mycorhizes des Pommes de terre sauvages (*Ibid.*, p. 252).
11. BURGEFF, Die Wurzelpilze der Orchideen, Iéna, Fischer, 1909.
12. ID., Die Anzucht tropischer Orchideen aus Samen, Iéna, Fischer, 1911.
13. COSTANTIN (J.), La vie des Orchidées, Paris, Flammarion, 1917.
14. COSTANTIN (J.) et DUFOUR (L.), Sur la biologie du *Goodyera repens* (*Revue gén. de Bot.*, XXXII, 1920).
15. DENIS (MARCEL), Sur quelques thalles d'*Aneura* dépourvus de chlorophylle (*C. R. Acad. des Sc.*, CLXVIII, 1919).
16. FABRE (J.-H.), Recherches sur les tubercules de l'*Himantoglossum hircinum* (*Ann. Sc. nat. Bot.*, 4^e série, V, 1855).
17. GALLAUD, Études sur les mycorhizes endotrophes (*Revue gén. de Bot.*, XVII, 1905).
18. JANSE, Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises (*Ann. Jard. bot. de Buttenzorg*, XIV, 1897).
19. LAURENT (E.), Recherches expérimentales sur la formation d'amidon dans les plantes aux dépens de solutions organiques (*Bull. Soc. Roy. de Bot. de Belgique*, t. XXVI, 1888).
20. LIVINGSTON (B. E.), On the nature of the stimulus which causes the change of form in polymorphic green Algae (*Bot. Gaz.*, XXX, 1900).
21. ID., Further notes on the physiology of polymorphism in green Algae (*Bot. Gaz.*, XXXII, 1901).
22. ID., Chemical stimulation of a green Alga (*Bull. Torr. Bot. Club*, XXXII, 1905).
23. MAGNUS (W.), Studien an der endotrophen Mycorrhiza von *Neottia Nidus-avis* (*Jahrb. für wiss. Bot.*, XXXV, 1900).
24. MAGROU (J.), Sur un cas de blastomycose pulmonaire (*Montpellier médical*, XXXIX, 1916).

25. MAGROU (J.), Les formes actinomycotiques du Staphylocoque (*Ann. Institut Pasteur*, XXXIII, 1919).
 26. MASSON (P.) et REGAUD (CL.), Sur l'existence de nombreux microbes vivant à l'état normal dans le tissu des follicules lymphoïdes de l'intestin chez le Lapin (*C. R. Soc. de Biol.*, LXXXI, 1918).
 27. Id., Apparition et pullulation des microbes dans le tissu lymphoïde de l'appendice cæcal du Lapin (*C. R. Soc. de Biol.*, LXXXII, 1919).
 28. Id., Sur la manière dont pénètrent les microbes de la cavité intestinale dans l'épithélium de revêtement des follicules lymphoïdes chez le Lapin (*Ibid.*).
 29. MOLLIARD (M.), Action morphogénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs (*Revue gén. de Bot.*, XIX, 1907).
 30. Id., Recherches physiologiques sur les galles (*Revue gén. de Bot.*, XXV, 1913).
 31. Id., Production expérimentale de tubercules aux dépens de la tige principale chez la Pomme de terre (*C. R. Acad. des Sciences*, CLXI, 1915).
 32. Id., Production artificielle d'une galle (*C. R. Acad. des Sc.*, CLXV, 1917).
 33. Id., Tubérisation aseptique de la Carotte et du Dahlia (*C. R. Soc. de Biol.*, LXXXIII, 1920).
 34. MOREAU (M. et Mme FERNAND), Recherches sur les Lichens de la famille des Peltigéracées (*Ann. Sc. nat. Bot.*, 10^e série, I, 1919).
 35. MOREAU (FERNAND), Les différents aspects de la symbiose lichénique chez le *Ricasolia herbacea* D. N. et le *Ricasolia amplissima* Leigt. (*C. R. Acad. des Sc.*, CLXX, 1920).
 36. PASTEUR, CHAMBERLAND et ROUX, De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence (*C. R. Acad. des Sc.*, XCII, 1881).
 37. PINOY (E.), Sur la nécessité d'une association bactérienne pour le développement d'une Myxobactérie, *Chondromyces crocatus* (*C. R. Acad. des Sc.*, CLVII, 1913).
 38. RAYNER (M. CHEVELEY), Obligate Symbiosis in *Calluna vulgaris* (*Ann. of Bot.*, XXIX, 1915).
 39. Id., Recent developments in the study of endotrophic mycorrhiza (*New Phytologist*, XV, 1916).
 40. ROUBAUD (E.), Les particularités de la nutrition et la vie symbiotique chez les Mouches tssetsés (*Ann. Institut Pasteur*, XXXIII, 1919).
 41. SMITH (ERWIN), Mechanism of overgrowth in plants (*Proc. Amer. philos. Soc.*, LVI, 1917).
 42. WAHRlich, Beiträge zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze (*Bot. Zeitung*, XLIV, 1886).
-

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHES I A III

Solanum tuberosum.

Plantules cultivées en sol infesté.

PLANCHE I.

- Fig. 1. — Plantule de cinq mois et demi, affranchie de la symbiose, non tubérisée. Grandeur naturelle.
Fig. 2. — Plantule de cinq mois, affranchie de la symbiose, non tubérisée. Grandeur naturelle.
Fig. 3. — Plantule de cinq mois et demi, soumise à la symbiose, tubérisée. Grandeur naturelle.
Fig. 4. — Plantule de quatre mois et demi, soumise à la symbiose, tubérisée. Grandeur naturelle.

PLANCHE II.

- Fig. 1. — Plantule de quatre mois et demi, affranchie de la symbiose, non tubérisée. Légèrement réduit.
Fig. 2. — Plantule de cinq mois et demi, soumise à la symbiose, tubérisée. Grandeur naturelle.

PLANCHE III.

- Fig. 1. — Plantule de quatre mois et demi, affranchie de la symbiose, non tubérisée. Réduit aux $\frac{2}{3}$ de la grandeur naturelle.
Fig. 2. — Plantule de cinq mois, soumise à la symbiose, tubérisée. Réduit de $\frac{1}{2}$.

PLANCHE IV

Orobis tuberosus.

- Fig. 1 et 2. — Plantules de neuf mois (fig. 1) et de sept mois et demi (fig. 2), cultivées aseptiquement en gélose. Les deux plantules sont abondamment ramifiées dès leur base et n'ont pas de tubercules. (On voit, à la partie inférieure de la tige, les cotylédons, encore inclus dans le tégument de la graine.) Légèrement réduit.
Fig. 3. — Plantule de neuf mois, cultivée en tube, dans de la terre infestée. La plantule n'a que deux tiges aériennes nées de l'aisselle des cotylédons ; le tubercule basilaire est masqué par la terre. Légèrement réduit.
Fig. 4. — Plantule de huit mois, cultivée en tube, dans de la terre stérilisée. Légèrement réduit.

PLANCHE V

Orobos tuberosus.

Fig. 1 et 2. — Plantules cultivées en terre infestée, montrant le développement du tubercule basilaire. Légèrement réduit.

Fig. 3. — Coupe transversale dans le tubercule basilaire d'une plantule de huit mois, cultivée en terre infestée. On voit les quatre faisceaux libéro-ligneux disposés en croix et le parenchyme amylofère (les amas de grains d'amidon, colorés par l'iode, apparaissent en noir). A la partie supérieure de la figure se trouve un bourgeon avorté. Gr. = 43.

PLANCHE VI

Solanum tuberosum.

Fig. 1. — Coupe longitudinale d'une racine chez une jeune plantule de Pomme de terre, montrant la pénétration du Champignon; *ap*, assise pilifère; *p*, poils absorbants; *as*, assise subéreuse. On voit dans l'assise pilifère un filament mycélien vésiculeux, avec disques adhésifs *d*₁, *d*₂, *d*₃, *d*₄, aux stades successifs de leur pénétration; *m*, peloton mycélien dans l'assise moyenne de l'écorce; *n*, noyau cellulaire.

Fig. 2. — Coupe longitudinale dans une racine de Pomme de terre, montrant un stade précoce de l'infestation: *m*, mycélium pelotonné; *n*, noyaux cellulaires; *n'*, noyaux du Champignon.

Fig. 3. — Un arbuscule dans une cellule corticale d'une racine de Pomme de terre, coupée longitudinalement.

Fig. 4. — Coupe longitudinale dans une racine de Pomme de terre, montrant le début de la dégénérescence du Champignon: *s*, sporangioles se formant aux dépens des rameaux d'un arbuscule; *s'*, sporangioles plus développées.

Fig. 5. — Deux cellules infestées dans une racine de Pomme de terre. On voit en *c*, dans la cellule inférieure, des corps de dégénérescence volumineux, résultant de la destruction d'un arbuscule par phagocytose. Mais les gros troncs mycéliens restés indemnes ont envahi la cellule supérieure, où ils ont produit un arbuscule (*a*); *n*, noyau cellulaire; *n'* noyaux du Champignon.

Fig. 6. — Deux pelotons mycéliens phagocytés en totalité, chez une Pomme de terre douée d'immunité précoce. Remarquer l'absence de sporangioles.

La Pomme de terre dont une racine est figurée en 6 a évolué sans produire de tubercules, les racines figurées en 2, 3, 4 et 5 appartiennent à des plantes précocement et abondamment tubérisées. Il s'agit dans tous les cas de plantes issues de graines.

(Gr. = 640 pour toutes les figures.)

PLANCHE VII

Fig. 1 et 2. — *Orobos tuberosus.*

Fig. 1. — Coupe longitudinale d'une racine, chez une plantule de cinq mois cultivée en terre infestée, montrant le mycélium intercellulaire et les arbuscules. Gr. = 434.

Fig. 2. — Coupe longitudinale dans une racine chez une plantule récoltée à la fin de l'hiver: *k*, mycélium enkysté; *m*, mycélium à paroi mince; *a*, arbuscules. Gr. = 600.

Fig. 3 et 4. — *Orobos coccineus.*

Fig. 3. — Coupe longitudinale d'une racine chez une plantule de soixante-dix jours cultivée au contact de l'endophyte de l'*Orobos tuberosus*. Le Champi-

gnon est détruit en totalité et réduit à l'état de corps de dégénérescence rétractés et surcolorables. Gr. = 434.

Fig. 4. — Coupe longitudinale d'une racine chez une plantule de quatre mois cultivée dans les mêmes conditions. On voit, à côté des corps de dégénérescence, des fragments de mycélium dégénéré (*m*). Gr. = 434.

PLANCHE VIII

Fig. 1 à 3. — *Mercurialis perennis*.

Fig. 1. — Coupe longitudinale d'une racine, montrant le pelotonnement et l'enkystement du mycélium : *k*, filaments enkystés ; *m*, filament à paroi mince ; *n*, noyaux du Champignon. Gr. = 600.

Fig. 2. — Une vésicule enkystée, multinucléée et bourgeonnante, dans une racine coupée longitudinalement : *v*, vésicule ; *c*, corps de dégénérescence ; *n*, noyau cellulaire. Gr. = 600.

Fig. 3. — Coupe longitudinale d'une racine, montrant la résistance des hyphes principales à la phagocytose : *c*, corps de dégénérescence résultant de la digestion des arbuscules ; *m*, mycélium vivant. Gr. = 600.

Fig. 4. — *Mercurialis annua*.

Coupe longitudinale dans une racine, montrant la destruction totale du Champignon : *c*, corps de dégénérescence résultant de la digestion des arbuscules ; *m*, fragment de mycélium dégénéré. Gr. = 600.

PLANCHE IX

Mucor Solani.

Fig. 1. — Arbuscule développé dans une culture sur gélose.

Fig. 2 à 6. — Racines de plantules de Pomme de terre inoculées avec le *Mucor Solani*.

Fig. 2. — Phase de pénétration du Champignon : *v*, vésicule découpée en digitations dirigées vers la racine. Gr. = 534.

Fig. 3. — Phase de pénétration (*suite*) : *p*, assise pilifère ; *s*, assise subéreuse ; *d*, disques adhésifs, dont l'un dirige des bourgeons cunéiformes vers l'assise subéreuse. Gr. = 600.

Fig. 4. — Coupe longitudinale d'une racine, montrant un peloton mycélien intracellulaire, *p*. Gr. = 534.

Fig. 5. — Coupe longitudinale d'une racine : *p*, peloton mycélien ; *a*, arbuscule ; *m*, mycélium vésiculeux. Gr. = 534.

Fig. 6. — Une vésicule intracellulaire. Gr. = 600.



Fig. 1



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Jeanlet, phot.

Solanum tuberosum.



Fig. 1.



Fig. 2.

Jeanlet, phot.

Solanum tuberosum.



Fig. 2.

Solanum tuberosum.

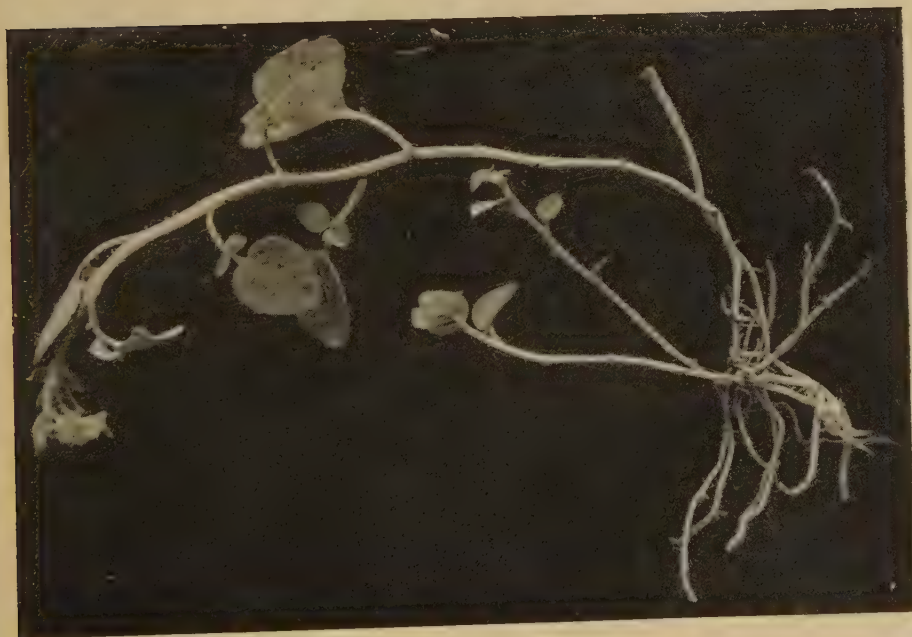


Fig. 1.

Jeanlet, phot.



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

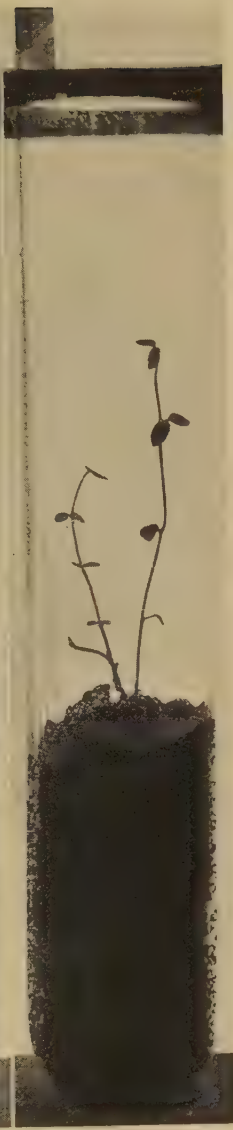


Fig. 4.

Jeanlet, phot.

Orobus tuberosus.

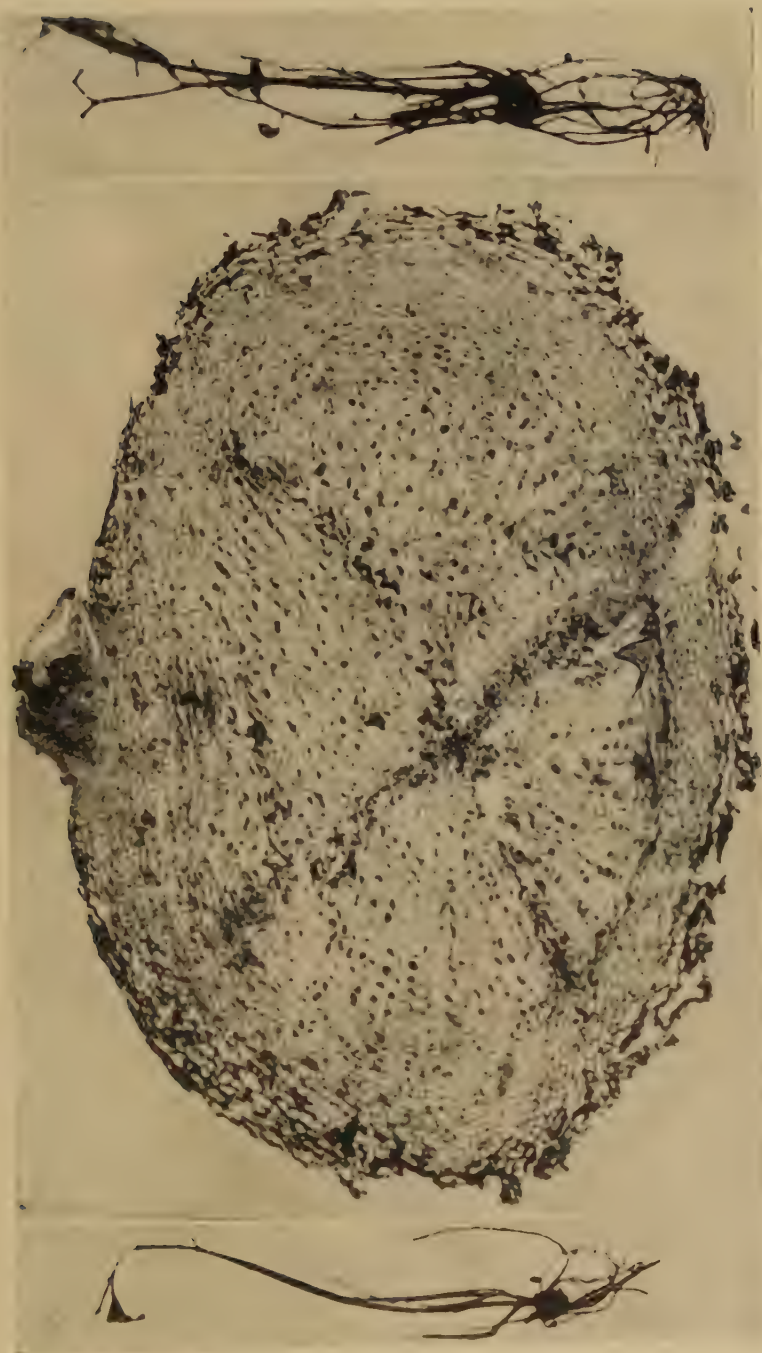
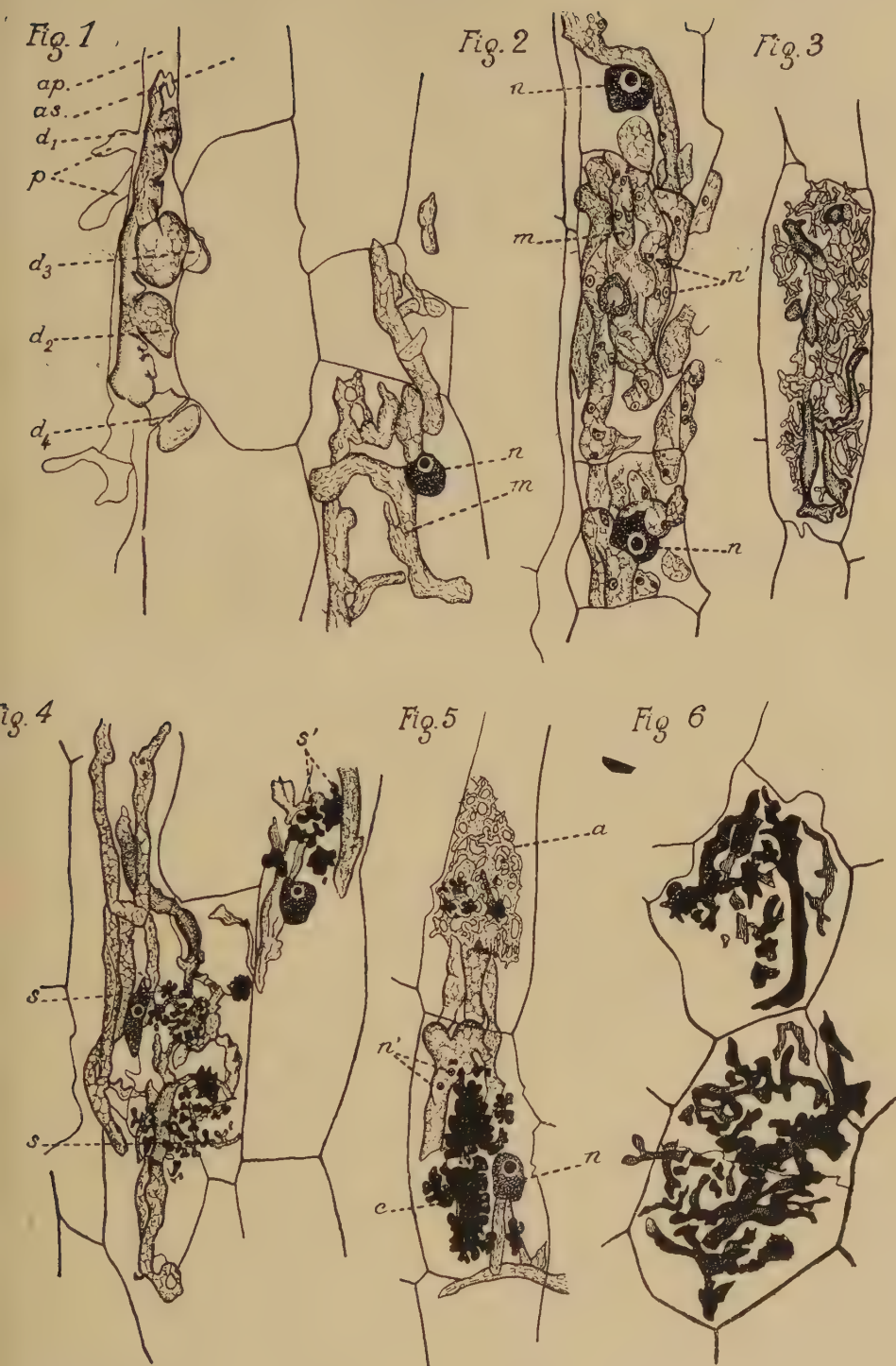


Fig. 2.

Fig. 3.
Orobus tuberosus.

Fig. 4.
Jeanlet, phot.



J. Magrou, del.

Solanum tuberosum.



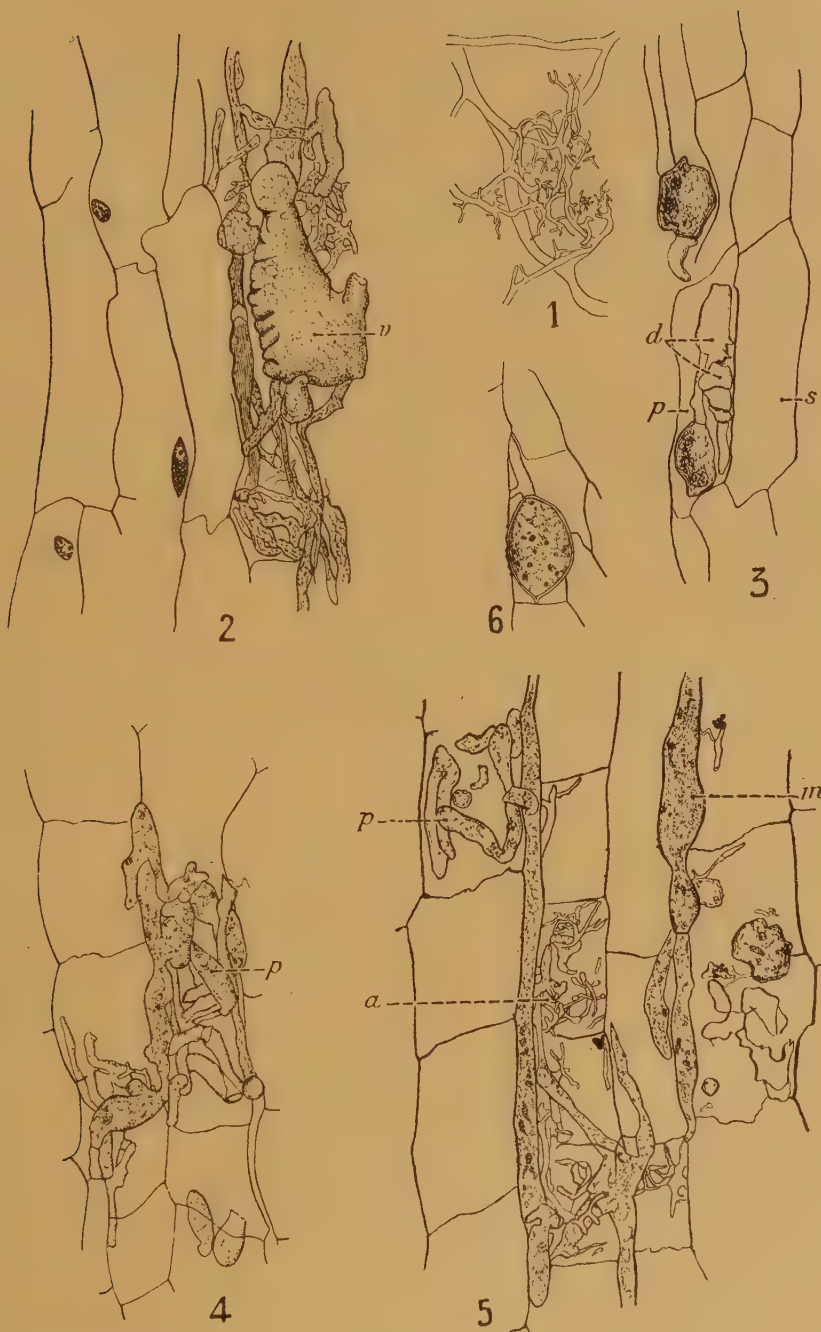
Orobanchaceae (1, 2).
Orobanchaceae (3, 4).

J. Magrou, del



J. Magrou, del.

Mercurialis perennis (1 à 3).
Mercurialis annua (4).



J. Magrou, del.

Mucor Solani.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

1. Cycle évolutif des plantes à tubercules. — 2. Facteurs physiques de la tubérisation. — 3. La symbiose. — 4. Cas des Ophrydées. — 5. Tubérisation précoce des Orchidées. — 6. La théorie de Noël Bernard. — 7. Objet du travail..... 181 à 186

CHAPITRE PREMIER

Symbiose et tubérisation chez la Pomme de terre.

8. Comparaison de la Pomme de terre et des Ophrydées. — 9. Les mycorhizes des *Solanum*. — 10. Le *Solanum Maglia*. — 11. Infestation expérimentale du *Solanum tuberosum*. — 12. Influence de la symbiose sur le développement. — 13. Culture aseptique de la Pomme de terre..... 188 à 195

CHAPITRE II

Histoire de l'« *Orobus tuberosus* ».

14. Mode de végétation de la plante adulte. — 15. Développement en milieu aseptique. — 16. Développement en présence de l'endophyte. — 17. Expériences complémentaires. — 18. Comparaison de l'*Orobus tuberosus* et de la Pomme de terre. — 19. Symbiose périodique et symbiose continue. — 20 Précocité de la tubérisation. — 21. Immunité de l'*Orobus coccineus*..... 198 à 212

CHAPITRE III

Relation entre la symbiose et le mode de végétation. Cas des Mercuriales.

22. Dimorphisme et symbiose. — 23. Les Mercuriales. — 24. La symbiose chez le *Mercurialis perennis*. — 25. Immunité du *Mercurialis annua*. 215 à 219

CHAPITRE IV

L'immunité dans la symbiose.

26. Virulence et résistance. — 27. Résistance mécanique. — 28. La phagocytose. — 29. Insuffisance de la phagocytose. — 30. L'immunité humorale. — 31. Infections mortelles. — 32. Fonction fungicide des tubercules. — 33. Réactions de défense dans la symbiose lichénique. — 34. Généralité des lois de l'immunité..... 220 à 232

CHAPITRE V

Mécanisme physique de la tubérisation.

35. Action à distance des Champignons. — 36. Mode de formation des tubercules. — 37. Croissance transversale chez les Thallophytes. — 38. Influence de la concentration. — 39. Tubérisation aseptique des Orchidées. — 40. Mécanisme de l'action des Champignons. — 41. Mécanisme des actions cécidogènes..... 234 à 240

CHAPITRE VI

Essais de culture des Champignons endophytes.

42. Premières tentatives. — 43. Les endophytes des Orchidées. — 44. L'endophyte du *Calluna vulgaris*. — 45. L'endophyte des *Solanum*. — 46. Le *Mucor Solani*. — 47. Inoculations expérimentales..... 243 à 249

CHAPITRE VII

Symbiose et évolution.

48. Résumé général. — 49. Hérité et variation. — 50. L'évolution des Orchidées. — 51. Les étapes de l'évolution. — 52. L'origine des plantes vasculaires. — 53. Symbiose et évolution chez les Lichens. — 54. La symbiose chez les Bactéries. — 55. Symbiose et évolution chez les animaux..... 251 à 263

APPENDICE

I. Statistiques	265
II. Techniques.....	268
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	271
EXPLICATION DES PLANCHES.....	273

